

Marcela Zamfirescu - Gheorghiu  
Aurora Popescu

---

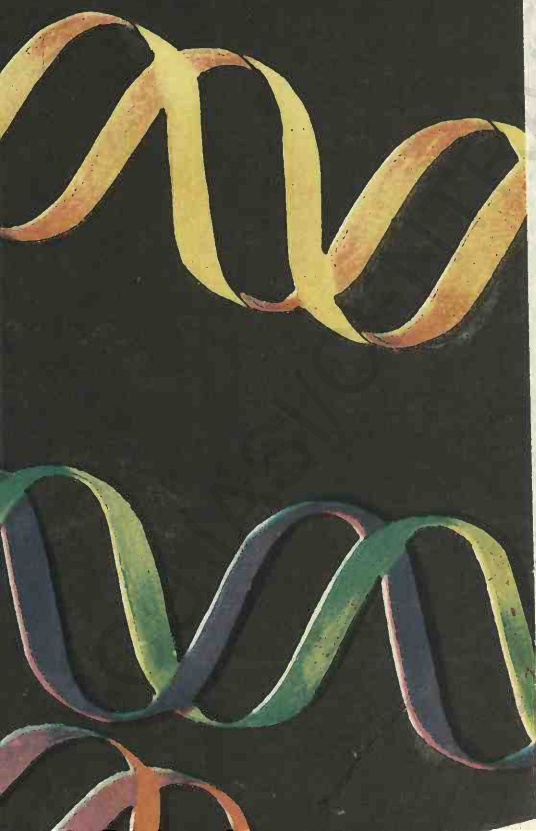
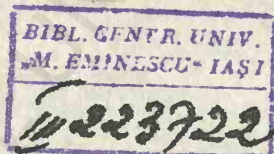
**TRATAT DE  
BIOCHIMIE  
MEDICALĂ**

---

**VOLUMUL II**  
editura medicală



-2-  
M 223722









AURORA POPESCU  
Prof. dr. doc.

MARCELA ZAMFIRESCU-GHEORGHIU  
Dr. doc. cercetător științific

# TRATAT DE BIOCHIMIE MEDICALĂ

VOL. II



332642

B.C.U. IASI



EDITURA MEDICALĂ – BUCUREȘTI, 1991



Coperta de SILVIA COLFESCU

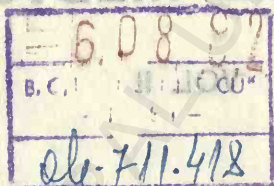
MARCELA ZAMFIRESCU-GHEORGHIU

Dr. doc. cercetător științific

AURORA POPESCU

Prof. dr. doc.

TRATAT  
DE  
BIOCHIMIE MEDICALĂ



ISBN 973-39-0141-5

ISBN 973-39-0114-8

# Cuprins

	Pag.
Cap. XIV. Biochimia singelui (Dr. doc. Marcela Zamfirescu-Gheorghiu)	11
XIV.1. Funcțiile singelui	11
XIV.1.1. Funcția de transport	12
XIV.1.2. Funcția reglatoare homeostatică	12
XIV.2. Volumul sanguin	13
XIV.2.1. Valori relative ale volumelor eritroplasmatică	13
XIV.2.2. Volumul sanguin total	14
XIV.3. Elementele figurate ale singelui	14
XIV.3.1. Eritrocitele	15
XIV.3.1.1. Bazele moleculare ale maturării seriei roșii	16
XIV.3.1.2. Compoziția chimică a eritrocitelor	18
XIV.3.1.3. Compartimentele funcționale ale eritrocitului	19
XIV.3.1.4. Metabolismul eritrocitului matur	23
XIV.3.1.5. Mecanismul de reglare a glicolizei anaerobe	24
XIV.3.1.6. Calea șuntului pentozic	24
XIV.3.1.7. Utilizarea oxigenului în eritrocit	24
XIV.3.1.8. Menținerea glutatyonului	26
XIV.3.1.9. Enzimopatii congenitale	27
XIV.3.1.10. Funcțiile endergonice eritrocitare	30
XIV.3.1.11. Hemoglobine	45
XIV.3.2. Leucocitele	46
XIV.3.2.1. Granulocitele	53
XIV.3.2.2. Monocitul	54
XIV.3.3. Trombocitele (globuline)	54
XIV.3.3.1. Funcțiile trombocitului	55
XIV.3.3.2. Bazele structurale ale funcțiilor trombocitare	55
XIV.3.3.3. Bazele moleculare ale funcțiilor trombocitare	56
XIV.3.3.4. Analogia metabolică între trombocit și mușchiul scheletic de „salt”	57
XIV.3.3.5. Patologia biochimică a trombocitului	58
XIV.4. Hemostaza și fibrinoliza	58
XIV.4.1. Coagularea (fazele și factorii principali ai coagularii)	66
XIV.4.1.1. Inhibitori ai coagularii	66
XIV.4.2. Fibrinoliza	67
XIV.5. Proteinele plasmatice	67
XIV.5.1. Funcțiile proteinelor plasmatice	68
XIV.5.2. Metode de dozare, separare și caracterizare ale proteinelor plasmatice	68
XIV.5.2.1. Metode de dozare	69
XIV.5.2.2. Metode de separare și caracterizare	69

	Pag.
XIV.5.3. Principalele proteine plasmatice	80
XIV.5.3.1. Albumina	80
XIV.5.3.2. Glicoproteinele plasmatice	81
XIV.5.4. Lipidele și lipoproteinele plasmatice	85
XIV.5.4.1. Componentele lipidice	86
XIV.5.4.2. Separarea lipoproteinelor	88
XIV.5.5. Enzimele plasmatice	89
XIV.5.5.1. Clasificarea funcțională a enzimelor plasmatice	90
XIV.5.5.2. Mecanismul disenzimei plasmatice	91
XIV.5.5.3. Principalele enzime plasmatice cu valoare diagnostică	92
XIV.6. Constituții minerali ai plasmiei	99
XIV.6.1. Gazele din singe	99
XIV.6.2. Electroliții	101
XIV.6.2.1. Ionograma plasmatică normală	101
XIV.6.2.2. Presiunea osmotică a plasmiei sanguine	101
XIV.6.2.3. Cationii	102
XIV.6.2.4. Anionii	103
XIV.6.2.5. Oligoelemente	104
XIV.7. Componente organice cu greutate moleculară mică	106
XIV.7.1. Substanțe azotate neproteice	106
XIV.7.1.1. Azotul neproteic	106
XIV.7.1.2. Ureca	106
XIV.7.1.3. Creatina	107
XIV.7.1.4. Creatinina	107
XIV.7.1.5. Acidul uric	107
XIV.7.1.6. Amoniacul și aminoacizii	108
XIV.7.1.7. Poli-peptide	109
XIV.7.1.8. Bilirubina	110
XIV.7.2. Substanțe organice neazotate	110
XIV.7.2.1. Glucoza	110
XIV.7.2.2. Compuși lipidici	111
XIV.7.2.3. Acizii organici	112
XIV.7.2.4. Corpuri cetonici	112
Cap. XV. Biochimia țesutului conjunctiv și a țesutului osos (Prof. dr. doc. Aurora Popescu)	114
XV.1. Țesutul conjunctiv	114
XV.1.1. Structura țesutului conjunctiv	114
XV.1.1.1. Constituții matricei extracelulare	115
XV.1.1.2. Celulele	116
XV.1.2. Constituții chimici ai țesutului conjunctiv	117
XV.1.2.1. Constituții proteici	117
XV.1.2.2. Constituții glucidici	127
XV.1.2.3. Modificările constituțiilor țesutului conjunctiv	131
XV.2. Țesutul osos	135
XV.2.1. Compoziția țesutului osos	135
XV.2.1.1. Constituții minerali	136
XV.2.1.2. Constituții organici	137
XV.2.2. Celulele osoase	138
XV.2.3. Biochimia procesului de formare și dislocare a osului	139
XV.2.3.1. Formarea osului	139
XV.2.3.2. Dislocarea osului	140
XV.2.3.3. Reglarea hormonală a formării și dislocării osului	141
XV.2.3.4. Tulburări ale homeostaziei osoase	142
Cap. XVI. Biochimia țesutului hepatic (Dr. doc. Marcela Zamfirescu Gheorghiu)	143
XVI.1. Structura morfo-funcțională a ficatului	145
XVI.1.1. Unitatea morfo-funcțională a ficatului	145
XVI.1.1.1. Lobulul hepatic	145
XVI.1.1.2. Acinul hepatic	145



	Pag.
XVI.1.2. Hepatocitul: caractere structurale și metabolice	146
XVI.1.3. Profilul enzimatic hepatic	147
XVI.1.3.1. Hepatocitul	147
XVI.1.3.2. Unitatea morfo-funcțională a ficatului	149
XVI.1.3.3. Profilul enzimatic al organului întreg	150
XVI.2. Funcțiile ficatului și bazele lor moleculare	152
XVI.2.1. Participarea ficatului la procesele metabolice	152
XVI.2.1.1. Rolul ficatului în metabolismul glucidic	153
XVI.2.1.2. Rolul ficatului în metabolismul lipidic	154
XVI.2.1.3. Rolul ficatului în metabolismul proteic	156
XVI.2.1.4. Rolul ficatului în metabolismul porfirinelor	157
XVI.2.2. Secreția bilei	161
XVI.2.3. Funcția de detoxifiere	163
XVI.2.3.1. Faza I: activitatea sistemului monooxidazăz microzomal	164
XVI.2.3.2. Faza a II-a: mecanismul general al conjugării	170
XVI.2.3.3. Inducția enzimatică microzomală	175
XVI.2.4. Patologia biochimică a ficatului	176
XVI.2.5. Explorări funcționale hepatice sistematizate	178
Cap. XVII. Biochimia țesutului muscular (Dr. doc. Marcela Zamfirescu-Gheorghiu)	180
XVII.1. Clasificarea mușchilor. Tipuri morfofuncționale	181
XVII.1.1. Mușchii striati sau scheletici	181
XVII.1.2. Mușchii netezi	181
XVII.1.3. Mușchiul cardiac	181
XVII.2. Organizarea ultrastructurală a mușchiului scheletic	182
XVII.2.1. Fibra musculară	182
XVII.2.2. Sistemul de membrane interne	182
XVII.2.3. Ultrastructura miofibrilei	183
XVII.3. Compoziția chimică a mușchiului	185
XVII.3.1. Constituenți minerali	185
XVII.3.2. Constituenți organici	186
XVII.3.2.1. Substanțe cu greutate moleculară mică (extracțibile)	186
XVII.3.2.2. Substanțe cu greutate moleculară mare neazotate	188
XVII.3.2.3. Proteinele	188
XVII.4. Con tracția musculară	195
XVII.4.1. Metabolismul muscular	195
XVII.4.1.1. Metabolismul energetic, glicogenoliza	195
XVII.4.1.2. Metabolismul acizilor grași	196
XVII.4.1.3. Metabolismul compușilor macroergici: ATP și creatinfosfat (fosfagenul)	196
XVII.4.2. Teoriile contracției musculare	197
XVII.4.2.1. Teoria modificărilor conformaționale	197
XVII.4.2.2. Teoria alunecării (Hanson-Huxley)	199
XVII.5. Patologia biochimică a mușchiului	202
XVII.5.1. Patologia în născută	202
XVII.5.2. Patologia dobândită	203
Cap. XVIII. Biochimia sistemului nervos (Dr. doc. Marcela Zamfirescu-Gheorghiu)	201
XVIII.1. Elementele structurale ale țesutului nervos	205
XVIII.1.1. Neuronii	205
XVIII.1.2. Sinapsele	206
XVIII.1.3. Celulele gliale	207
XVIII.2. Compoziția țesutului nervos	207
XVIII.2.1. Electroliții	208
XVIII.2.2. Lipidele	208
XVIII.2.3. Proteinele	210
XVIII.2.4. Alți compuși azotați	211
XVIII.2.4.1. Aminoacizii	211
XVIII.2.4.2. Acizii nucleici și substanțele înrudite	212
XVIII.2.4.3. Nucleoproteinele	212

	Pag.
XVIII.2.5. Glucidele	212
XVIII.2.6. Enzimele	213
XVIII.2.7. Vitaminele	213
XVIII.2.8. Mediatorii chimici	213
XVIII.2.8.1. Acetilcolina	214
XVIII.2.8.2. L-noradrenalina	215
XVIII.2.8.3. Dopamina	215
XVIII.2.8.4. Serotonina	215
XVIII.2.8.5. GABA și alți aminoacizi	216
XVIII.3. Elemente de farmacologie biochimică a mediatorilor chimici	216
XVIII.4. Metabolismul sistemului nervos	217
XVIII.4.1. Sinteza și degradarea acetilcolinei	218
XVIII.4.2. Suntul GABA	219
XVIII.4.3. Metabolismul acidului glutamic și al glutaminei	220
XVIII.5. Transmisia impulsului nervos	221
XVIII.5.1. Excitabilitate. Potențial de membrană	221
XVIII.5.2. Potențialul și curentul de acțiune	223
XVIII.5.3. Cauzele modificării permeabilității membranei	224
XVIII.6. Patologia biochimică a sistemului nervos	225
XVIII.6.1. Patologia biochimică înăscută	225
XVIII.6.2. Patologia biochimică dobândită	226
XVIII.6.2.1. Demielinizarea	226
XVIII.6.2.2. Degenerescența Walleriană	226
XVIII.6.2.3. Polinevritele	226
XVIII.6.2.4. Biochimia stărilor amnezice	227
XVIII.6.2.5. Biochimia stărilor comatoase	227
XVIII.7. Lichidul cefalo-rahidian	229
Cap. XIX. Rinichiul și urina (Dr. doc. Marcela Zamfirescu-Gheorghiu)	232
XIX.1. Elemente de structură funcțională renală	232
XIX.1.1. Glomerulul	233
XIX.1.2. Tubul urinar	233
XIX.1.2.1. Tubul contort proximal	234
XIX.1.2.2. Ansa Henle	236
XIX.1.2.3. Tubul contort distal și tubul colector	236
XIX.2. Metabolismul țesutului renal	236
XIX.2.1. Metabolismul energetic	236
XIX.2.2. Metabolismul azotat	237
XIX.3. Profilul enzimatic renal	239
XIX.4. Funcțiile renale și mecanismul formării urinei	240
XIX.4.1. Filtrarea glomerulară	241
XIX.4.2. Resorbția tubulară	242
XIX.4.3. Secreția tubulară	243
XIX.5. Excreția urinară a componentelor sanguine	244
XIX.5.1. Componente minerale	244
XIX.5.1.1. Apa	244
XIX.5.1.2. Excreția ionilor de sodiu și clor	244
XIX.5.1.3. Excreția ionilor de potasiu	245
XIX.5.1.4. Excreția ionului de calciu	245
XIX.5.1.5. Excreția biocarbonaților și a ionilor fosfat și sulfat	245
XIX.5.1.6. Excreția amoniacului urinar	246
XIX.5.1.7. Excreția ionilor de hidrogen	247
XIX.5.1.8. Reglarea echilibrului acido-bazic în tubul contort distal	248
XIX.5.2. Componente organice	249
XIX.5.2.1. Glucoza	249
XIX.5.2.2. Corpii cetonici	249
XIX.5.2.3. Aminoacizii	249
XIX.5.2.4. Ureea	249
XIX.5.2.5. Creatinina	250



	Pag.
XIX.5.2.6. Acidul uric	250
XIX.5.2.7. Proteinele	250
XIX.5.2.8. Substanțe străine	250
XIX.6. Diluarea și concentrarea urinei	251
XIX.7. Noțiunea de „clearance” (epurare) renal	251
XIX.8. Urina. Caractere generale; fizice și chimice	253
XIX.8.1. Cantitatea	255
XIX.8.2. Aspectul și mirosul	255
XIX.8.3. Culoarea	256
XIX.8.4. Densitatea și viscozitatea urinei normale	256
XIX.8.5. Reacția urinei normale	257
XIX.9. Compoziția chimică a urinei normale	257
XIX.9.1. Componente minerale	258
XIX.9.1.1. Clorul	258
XIX.9.1.2. Fosforul	259
XIX.9.1.3. Sulfur	259
XIX.9.1.4. Cationii $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$	259
XIX.9.1.5. Sărurile amoniacale	260
XIX.9.2. Componente organice	260
XIX.9.2.1. Ureea	260
XIX.9.2.2. Creatinina	260
XIX.9.2.3. Creatina urinară	260
XIX.9.2.4. Acidul uric	261
XIX.9.2.5. Aminoacizii	261
XIX.9.2.6. Acizii organici	264
XIX.10. Hormoni, vitamine, enzime	264
XIX.11. Componente anormale ale urinei	266
XIX.11.1. Glucidele. Diagnosticul unei melituri	266
XIX.11.2. Proteinele	267
XIX.11.2.1. Proteinuria de tip tubular	267
XIX.11.2.2. Proteinuri selectiv și neselctive	269
XIX.11.2.3. Paraproteinurie	269
XIX.11.3. Enzimele	270
XIX.11.4. Elemente biliare (pigmenți și acizi biliari)	270
XIX.11.4.1. Bilirubina directă	270
XIX.11.4.2. Urobilinogenul și urobilina	271
XIX.11.4.3. Acizii biliari	271
XIX.11.5. Pigmenții sânguii	272
XIX.11.6. Porfirinele	272
XIX.11.7. Corpii cetonic	273
XIX.11.8. Acidul fenilpiruvic	273
XIX.11.9. Alcaptonuria	274
XIX.11.10. Melaninele	274
XIX.12. Sedimentul urinar	274
XIX.12.1. Elemente organizate	274
XIX.12.2. Elemente neorganizate	274
XIX.12.3. Sedimentul urinar cantitativ	275
XIX.13. Litiaza renală	277
XIX.14. Rolul vasopresor al rinichiului	278
XIX.15. Explorarea funcțională renală	280
XIX.15.1. Probe funcționale globale	280
XIX.15.2. Probe funcționale selectiv	280
XIX.15.3. Explorarea funcțională a rinichiului, separat	281
Cap. XX. Blochimia răspunsului imun (Dr. doc. Marcela Zamfirescu-Gheorghiu)	282
XX.1. Generalități	282
XX.2. Modalități reacționale ale organismului	283
XX.2.1. Rezistența generală nespecifică	284
XX.2.2. Imunitatea specifică dobândită	284
XX.2.2.1. Posibilitatea de reacție specifice și nespecifică	284



	Pag.
XX.2.3. Sistemul imun	285
XX.2.3.1. Limfocite „T” și „B”	285
XX.2.3.2. Etape celulare ale răspunsului imunitar	286
XX.3. Antigenele	288
XX.3.1. Determinanți antigenici	288
XX.3.2. Antigenele complete	288
XX.3.2.1. Condiții de antigenitate	289
XX.3.2.2. Condiții de specificitate	290
XX.3.2.3. Valența antigenelor	291
XX.4. Haptene (Antigene incomplete sau parțiale)	292
XX.5. Tipuri de antigene cu importanță biologică-medicală	292
XX.5.1. Virusuri cu structură macromoleculară nucleoproteică	292
XX.5.2. Antigenele bacteriene	293
XX.5.3. Bacilii Koch	294
XX.5.4. Toxinele bacteriene	294
XX.5.5. Antigene celulare și tisulare	295
XX.5.5.1. Antigenele heterofile sau antigenele Forssman	295
XX.5.5.2. Antigenele specifice de grup sanguin	295
XX.5.5.3. Antigenele leucocitare și trombocitare	297
XX.6. Anticorpii sau imunoglobulinele	297
XX.6.1. Considerații generale	297
XX.6.1.1. Model general de structură	299
XX.6.2. Heterogenitatea imunoglobulinelor	300
XX.6.3. Proprietăți fizico-chimice și biologice	301
XX.6.3.1. Cîteva aspecte de compoziție chimică și structură	302
XX.6.3.2. Clase și structuri particulare ale imunoglobulinelor	304
XX.7. Situsul de combinare al anticorpilor. Reacția antigen-anticorp	308
XX.8. Imunoglobuline legate (sesile) de membranele celulare	309
XX.8.1. Receptorii de suprafață ai celulelor imunocompetente	309
XX.8.2. Beta <sub>2</sub> -microglobuline și antigenele HLA	310
XX.9. Biosinteza anticorpilor	312
XX.9.1. Controlul genetic al sintezei Ig	313
XX.9.2. Teoriile formării anticorpilor	313
XX.10. Factori și mecanisme de rezistență nespecifică	314
XX.10.1. Sistemul complement	314
XX.10.1.1. Nomenclatura și biochimia complementului	314
XX.10.1.2. Unități funcționale ale complementului	315
XX.10.1.3. Mecanismul de activare a complementului	316
XX.10.1.4. Patologia complementului	317
XX.10.2. Properdina	317
XX.10.3. Interferonul	317
XX.10.4. Lizozimul	318
XX.10.5. Reacții de hipersensibilitate	318
Cap. XXI. Noțiuni de nutriție (Prof. dr. doc. Aurora Popescu)	321
XXI.1. Generalități	321
XXI.2. Necesarul nutritiv	321
XXI.2.1. Cheltuiala de energie	322
XXI.2.1.1. Metabolismul bazal	322
XXI.2.1.2. Efectele termogenetice	323
XXI.2.1.3. Cheltuiala energetică determinată de activitatea musculară	323
XXI.2.1.4. Necesarul energetic	324
XXI.2.2. Compoziția și energia rației alimentare	325
XXI.3. Principiile nutritive	327
XXI.3.1. Glucidele	327
XXI.3.2. Lipidele	328
XXI.3.3. Proteinele	330
XXI.3.4. Vitaminele	332
XXI.3.5. Mineralele	334

	Pag.
XXI.3.6. Substanțele alimentare bioactive . . . . .	335
XXI.3.7. Fibrele alimentare . . . . .	336
XXI.3.8. Apa . . . . .	338
XXI.4. Principalele produse alimentare . . . . .	339
XXI.4.1. Produsele alimentare de origine animală . . . . .	339
XXI.4.1.1. Laptele și produsele lactate . . . . .	339
XXI.4.1.2. Ouăle . . . . .	342
XXI.4.1.3. Carnea . . . . .	342
XXI.4.1.4. Peștele . . . . .	343
XXI.4.2. Produsele alimentare de origine vegetală . . . . .	344
XXI.4.2.1. Cerealele . . . . .	344
XXI.4.2.2. Legumele . . . . .	345
XXI.4.2.3. Fructele . . . . .	347
XXI.4.3. Alte produse alimentare . . . . .	348
XXI.4.3.1. Produsele zaharoase . . . . .	348
XXI.4.3.2. Băuturile . . . . .	349
XXI.4.3.3. Condimentele . . . . .	350
XXI.4.4. Alimente bogate în aminoacizi esențiali . . . . .	350
XXI.4.5. Repartizarea unor principii nutritive în cele mai importante produse alimentare . . . . .	352
XXI.5. Contribuția nutriției la păstrarea sănătății . . . . .	353
Bibliografie selectivă . . . . .	356
Index alfabetic . . . . .	359

Un sistem vascular bine dezvoltat, care asigură circulația sângelui, este unul din apărările organismului împotriva agenților nocivi. Sângelui îi revine o funcție deosebit de importantă în organism, fiind el cel care transportă substanțele nutritive și gazele necesare vieții celulelor și țesuturilor. Sângelui îi revine și o funcție deosebit de importantă în organism, fiind el cel care transportă substanțele nutritive și gazele necesare vieții celulelor și țesuturilor. Sângelui îi revine și o funcție deosebit de importantă în organism, fiind el cel care transportă substanțele nutritive și gazele necesare vieții celulelor și țesuturilor.

Datele de biochimie a sângelui prezentate în acest capitol au ca scop să prezinte o imagine de ansamblu asupra sângelui și să evidențieze rolul său în organism.

## XIV. FUNCȚIILE SINGELUI

Date fiind poziția sângelui în ansamblul funcțional al sistemelor lichide din organism — lichidul intracelular, interstital, intravascular — și funcțiile pe care le îndeplinește, el are o importanță deosebită în viața organismului. Sângelui îi revine și o funcție deosebit de importantă în organism, fiind el cel care transportă substanțele nutritive și gazele necesare vieții celulelor și țesuturilor.





## Cap. XIV. BIOCHIMIA SÎNGELUI

— izotermia —

Uzura datorită fazei lichide a sîngelui. Căldura specifică foarte ridicată a sîngelui, face posibilă distribuția în întregul organism a căldurii ce s-ar putea produce în anumite zone. Această calitate în viața organismului este foarte necesară pentru a păstra echilibrul termic al corpului sau a evita variațiile din mediul înconjurător. Dintr-o parte, sîngele transportă substanțe nutritive și gaze, iar din altă parte, el transportă de la plămîni la restul corpului, cele legate de respirație. Oxigenul transportat de la plămîni la restul corpului, în sîngele în vîrstă, este transportat de către hemoglobina din eritrocite. În sîngele în vîrstă, fiecare eritrocit conține 25 milioane molecule de hemoglobină, proteină transportătoare de oxigen. Un gram de sîngele conține 15-20% eritrocite. Acestea sunt celulele care transportă oxigenul din plămîni la restul corpului. — anoxia — anoxia este o afecțiune care apare în timpul unei infecții severe, în timpul unei anemii severe sau în timpul unei asfirie. Anoxia este o afecțiune care apare în timpul unei infecții severe, în timpul unei anemii severe sau în timpul unei asfirie. Anoxia este o afecțiune care apare în timpul unei infecții severe, în timpul unei anemii severe sau în timpul unei asfirie.

Sîngele este un țesut lichid, heterogen, alcătuit din două faze, una propriu-zisă lichidă, plasma, soluție apoasă de protide și săruri minerale, împotnată la pH 7,35 și cealaltă solidă, corpusculară reprezentată prin eritrocite, leucocite și trombocite, suspendate în partea lichidă. Sîngele circulă într-un sistem vascular închis, fiind menținut în continuă mișcare prin pompa cardiacă și stabilind astfel comunicația umorală între diferitele celule din țesuturi. O concepție sistemică, actuală și unitară propune definirea sîngelui ca țesut mezenchimal, derivat din mezenchimul primitiv ce posedă multiple potențialități morfo-funcționale. Ca țesut mezenchimal el are o componentă circulantă, sîngele periferic, și una centrală, tisulară, reprezentată prin organele hematopoietice : măduva osoasă pentru elaborarea elementelor eritromielocice și megacariocitare și organele limfoide care produc seria limfocitară. Încadrarea sîngelui ca țesut mezenchimal are la bază faptul că toate celulele sanguine derivă din foia embrionară mezodermică. Celulele periferice sanguine sînt suspendate într-o substanță fundamentală fluidă, a cărei compoziție asemănătoare în bună parte cu substanța fundamentală din alte țesuturi mezenchimale, include în sistemele sale coloidale molecule proteice, complexe moleculare glicoproteice, lipoproteice. Această substanță fundamentală „fluidă” mobilă, îmbibă de altfel și celulele din organele hematoformatoare, măduva osoasă și sistemul limfoid. Sistemele vasculare, în care circulă sîngele și limfa, sînt în legătură strînsă și permanentă cu sistemul lacunar al spațiilor intercelulare, în care se găsește lichidul interstițial (15% din greutatea corporală totală), ce reprezintă adevăratul mediu intern al organismului.

Datele de biochimia sîngelui prezentate în cele ce urmează se referă exclusiv la sîngele periferic.

### XIV.1. FUNCȚIILE SÎNGELUI

Data fiind poziția sîngelui în ansamblul funcțional al sistemelor lichide din organism — lichidul intracelular, interstițial, intravascular — sîngele periferic are de îndeplinit cîteva roluri care, în esență, se pot concentra în două funcții fundamentale : funcția de transport și funcția reglatoare homeostatică.

## XIV.1.1. FUNCȚIA DE TRANSPORT

Aceasta constă în vehicularea — în dublu sens, intrare și ieșire — a tuturor substanțelor necesare vieții celulare sau a celor rezultate din metabolismul intermediar. Dintre principalele substanțe transportate sînt, în primul rînd, cele legate de respirație. Oxigenul transportat de la plămîn la țesuturi și  $\text{CO}_2$  în sensul invers. Fiecare eritrocit conține 28 milioane molecule hemoglobină, proteină transportoare de oxigen. Urmează apoi substanțele nutritive — aminoacizi, acizi grași, oze, vitamine — provenite din tractul digestiv, precum și produsele finale ale metabolismului intermediar (uree, acid uric) vehiculate pentru eliminare prin rinichi, plămîn, piele, intestin — precum și hormonii transferați de la glandele endocrine către țesuturi țintă. Proteinele plasmatice transportate pot lega substanțe cu proprietăți hidrofobe, dispunînd de o suprafață funcțională de 700 000  $\text{m}^2$ .

Prin proteinele transportate și proteinele plasmatice de tipul imunoglobulinelor și prin leucocitele sale, singele ia parte la procesul de apărare specifică a organismului. Prin proteinele anticorpi (IgG, IgM, IgA, IgD, IgE), limfocitele T și B, macrofage și plasmocite, singele asigură desfășurarea proceselor imune față de agenții infecțioși — virusuri și bacterii — sau proteine străine. Prin componentele de tipul proteinei C-reactive, sistemului complement, properdinei, lizozimului, singele participă la desfășurarea mecanismelor de apărare nespecifică. Prin leucocite și procesul de fagocitoză pe care acestea îl îndeplinesc, singele participă la apărarea organismului.

Funcția de transport are deci trei principale componente: respiratorie, nutritivă și de apărare.

## XIV.1.2. FUNCȚIA REGLATOARE HOMEOSTATICĂ

Se realizează cu următoarele componente:

— izoionic sau păstrarea constantă a concentrațiilor și raporturilor ionice (cationii  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ; anionii  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ) și a echilibrului acido-bazic cu menținerea concentrației ionilor din hidrogen la pH 7,35;

— izotonia, sau menținerea la nivelul constant a presiunii osmotice a singelui, proporțională cu numărul de molecule de compuși nedisociați și cu numărul de ioni ai electroliților ce se găsesc în soluție, dintre care, ionii de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  răspund de 85 % din presiunea osmotică totală. Orice mărire a presiunii osmotice într-unul din sectoarele hidrice (intravascular, extracelular, intracelular) trebuie să fie compensată în condiții fiziologice, prin modificări de volum hidric. Izotonia este deci corelată cu menținerea constantă a volumului sanguin sau volemia. Datorită conținutului său proteic, în special nivelului de concentrație al albuminelor serice, singele exercită o presiune coloid-osmotică datorită căreia faza lichidă este menținută în sistemul vascular;



— izotermia sau menținerea constantă a temperaturii corpului, se realizează datorită fazei lichide a singelui. Căldura specifică, foarte ridicată a apei, face posibilă distribuirea în întregul organism a căldurii ce s-ar putea produce prin reacțiile exoterme la nivelul organelor metabolice extrem de active cum este, de exemplu, ficatul.

## XIV.2. VOLUMUL SANGUIN

Singele reprezintă 5—7,5% din greutatea corporală, corespunzând la adult unui volum total de 4,5—5 litri, adică 65—76,7 ml/kilocorp. Fiind constituit din două faze — una lichidă și alta solidă, reprezentată în special de globulele roșii — singele este un fluid viscos, datorită, în special, acestei ultime componente, ce mărește frecarea interioară. Viscositatea singelui total este cuprinsă între 4 și 6 poises la 38°C iar a plasmiei — determinată mai ales de proteine — este de numai 1,60—2,1.

Densitatea medie a singelui, 1056, este tot o rezultantă a densității celor două faze componente (lichidă și solidă). Trebuie menționat că prin coagularea singelui și rețracția cheagului lichidul ce se eliberează reprezintă serul sanguin care echivalează cu plasma, minus fibrinogenul reținut de cheag.

### XIV.2.1. VALORI RELATIVE ALE VOLUMELOR ERITROPLASMATICE

Volumele relative ale celor două faze ale singelui variază cu vârsta, sexul, starea fiziologică sau patologică a unui subiect. Elementele corpusculare — printre care eritrocitele sînt preponderente — ocupă la normal 40—45% din volumul total al singelui; la bărbat variind între 42—52%, iar la femei între 37—47%. Acest procent, corespunzător volumului elementelor corpusculare din singele total, este denumit curent hematocrit. Denumirea vine de la faptul că singele făcut incoagulabil, prin adăugarea unui antiocagulant (heparină, oxalat, citrat, EDTA), este centrifugat într-un tub gradat exact, hematocritul. În aceasta se separă partea lichidă de cea solidă a cărei înălțime se citește cu ușurință pe tub. Deasupra coloanei de globule roșii se formează un mic disc alburui de globule albe. Valoarea hematocritului periferic este ușor diferită de aceea a hematocritului corporal —  $H_c$  —, legate fiind prin relația  $H_c = H_p \times 0,855$ . Diferența dintre cele două valori este datorată dimensiunilor variate ale diametrelor vasculare și a gradului de viscozitate intravasculară corespunzătoare. Hematocritul exprimă printre altele și schimbul de lichid dintre sînge și compartimentul extravascular. În patologie, hematocritul crește în policitemie și scade în cursul anemiilor.



## XIV.2.2. VOLUMUL SANGUIN TOTAL

Suma celor două volume, globular și plasmatic, reprezintă volumul sanguin total. Metodele folosite pentru determinarea spațiilor ocupate de lichide în organism se bazează pe tehnica diluției, adică a distribuției unei substanțe indicatoare (colorant sau radionuclid) în compartimentul explorat. Coloranții folosiți pentru măsurarea volumului plasmatic (albastru Evans, albastru Chicago 6B) se fixează pe albumina serică în proporție de 8—14 moli/mol de albumină. Dintre trăsorii radioactivi ce se folosesc în acest scop, menționăm  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{32}\text{P}$ , pentru determinarea spațiului globular, serumalbumina umană marcată cu  $^{125}\text{I}$ . Se aplică metoda dublului marcaj, în două variante :

- marker plasmatic colorant și marker globular radioactiv ;
- ambii marker-i, plasmatic și globular, radioactivi.

Volumul V se deduce din relația  $V = \frac{i}{c}$  în care  $i$  = cantitatea de substanță injectată, iar  $c$  = concentrația plasmatică a acesteia. Concentrația marker-ilor radioactivi se măsoară prin numărul de impulsuri pe minut.

Volumul sanguin este proporțional cu greutatea. La persoanele cu talie și greutate medie (70 kg), volumul globular reprezintă aproximativ 3% din greutatea corpului, iar cel plasmatic 4,5% ; volumul total corespunde în acest caz la 7,5% din greutatea totală. Prin metoda dublului marcaj, volumul globular mediu este de 30,9 ml/kg corp ( $\pm 2,7$ ) ; volumul plasmatic mediu este de 45,8% ml/kg corp  $\pm 3,1$  iar volumul sanguin total este desigur egal cu suma celor două valori, adică 76,7 ml/kg corp. În patologie volumul globular crește în poliglobulii. Dintre variațiile volumului plasmatic pot fi menționate hipovolemia sindromului nefrotic, hipovolemia acută din șocul traumatic, posthemoragic sau din anemiile și hipovolemiile cronice din cursul denutrițiilor severe (cașexie canceroasă, cancer al esofagului etc.).

## XIV.3. ELEMENTELE FIGURATE ALE SÎNGELUI

### XIV.3.1. ERITROCITELE

Cantitatea totală de globule roșii este de circa 25 miliarde de elemente produse cu un debit de 2,4 milioane pe secundă. Ele dispun de o suprafață totală de 3 800 m<sup>2</sup>. Fiecare mililitru de singe conține 4—6 milioane de globule roșii cu o durată medie de viață cuprinsă între 110—130 zile. Ca elemente mature eritrocitele au forma unui disc biconcav, al cărui conținut lichid este menținut închis prin membrana celulară. La adulți ele provin din celula de origine (stem-cell) prin eritropoeză medulară sub influența hormonului eritropoietină (de origine renală). În cursul diviziunii proeritroblastilor începe sinteza hemoglobinei, principală substanță proteică cu funcție de transport de oxigen din viitorul eritrocit. Eritroblaștii sînt așezați „în insule“, centrate

de o celulă reticulară care foarte probabil îi alimentează în cursul procesului de maturație. Prin procesul de maturație, simultan cu intensificarea aceluia de biosinteză a hemoglobinei, începe procesul de dezagregare a nucleului care este apoi eliminat și preluat de celula reticulară centrală. Eritrocitul anucleat trece în circulație ca element corpuscular care însă păstrează capacitatea de a sintetiza oligopeptidele de tip glutatîon precum și hemoglobină dar nu și alte proteine.

Energia cerută pentru aceste sinteze, cît și pentru întreținerea structurii și forme discoidale, a permeabilității selective a membranei, este furnizată de ATP, sintetizat prin „fosforilarea de substrat” în cursul glicozei anaerobe (cu intervenția enzimelor 3-glicerinaldehid-fosfat-dehidrogenază și fosfoenol-piruvat-kinază).

Eritrocitele tinere, trecute în circulație, posedă un reticul format din ARN ribosomal, colorabil prin brillant-cresil blau. Ele sînt denumite reticulocite. Viața limitată a eritrocitelor ar putea fi explicată în parte, pe baza faptului că biosinteza proteinelor enzimactice nu este posibilă în lipsa informației genetice prin pierderea nucleului, a ribesomilor și mitcondriilor și odată cu aceștia, a capacității de intensă fosforilare oxidativă. În citosolul celulei rămîne intensă însă calea glicolică anaerobă, prezente fiind și enzimele șuntului pentozic.

#### XIV.3.1.1. Bazele moleculare ale maturării seriei roșii

Complexul proces de maturare a seriei roșii, de la celula de origine către proeritroblast trecînd prin eritroblast bazofil, oxili, reticulocit, eritrocit matur, se petrece la adult în special, în măduva osoasă iar la făt și în condiții patologice, în ficat și splină. Prima treaptă a maturării, adică transformarea celulei de origine în proeritroblast se realizează printr-o inducție selectivă a procesului de diferențiere eritroidă, prin intervenția eritropoietinei. Procesul energetic cheie al mecanismului biochimic al maturării este respirația, a cărei scădere treptată influențează printr-o serie de modificări celelalte reacții înălțuite. Un inhibitor specific, de natură proteică, bogat în sulf și fier, diminuează respirația, acționînd ca frenator al activității succindehidrogenazei și al NADH-citrocrom-reductazei. Viteza de inhibare a respirației este cu probabilitate hotărîită prin ritmul de intrare a inhibitorului în mitocondrii. Alte cercetări au dovedit că mai intervin diferiți inhibitori care acționează asupra citocrom-oxidazei. Inhibitorul specific menționat dispăre din celulele mature. Inactivarea sa se realizează printr-o reacție cu fosfatidele, în special cu cefalinele din eritrocite.

Paralel cu modificările respirației scade concentrația de ARN cît și sinteza diferitelor tipuri de ARN. Activitatea diferitelor tipuri de ARN-aze, intensă pînă în momentul trecerii de la reticulocit la eritrocit, scade brusc în momentul acestei transformări. Trecerea reticulocit-eritrocit se face în timp scurt (1—3 zile). Respirația scade masiv ajungînd la 1/50 din valoarea inițială corespunzătoare formelor tinere. Glicoliza anaerobă este micșorată, dar rămîne totuși intensă, iar diferitele capacități de sinteză se reduc în sensul



menționat deja, odată cu dispariția ultrastructurilor, nucleu, ribosomi, mitocondrii. Concentrația în ATP scade ajungând la mai puțin de 1/2 din nivelul caracteristic celulelor tinere. Cu pierderea ribosomilor, ce conțin cea mai mare parte din ARN, dispăre reticulul caracteristic reticulocitelor, colorabil prin coloranți bazici. Reticulocitoza este un indicator periferic al eritropoiezei. Nu se cunosc cu precizie cauzele care limitează viața hematiei, dar se poate invoca o corelație probabilă prin pierderea informației genetice a ribosomilor și mitocondriilor, elemente fără de care biosinteza proteică nu mai este posibilă. După cele maximum 130 de zile de viață, eritrocitele sînt degradate în sistemul reticulo-endotelial din splină, măduva osoasă și ficat, cu producerea de bilirubină din nucleul porfirinic al hemoglobinei. Fierul liberat din nucleul hemic și aminoacizii proveniți din degradarea globinei pot fi reutilizați în biosinteză.

#### XIV.3.1.2. Compoziția chimică a eritrocitelor

Hematiile conțin 65% apă și 35% substanțe solide. Compoziția globală a eritrocitelor ar putea fi apreciată, după Ponder, Granick și Cazal, în modul următor: din 1 000 mililitri globule roșii, ce corespund la 1 097 g, 707 sînt reprezentate de apă, din care 500 g liberă și 206 g legată. Reziduul uscat (390 g) ar corespunde la 330—360 g hemoglobină, 16,7 g alte substanțe solubile și 13,3 g stroma.

*Componente minerale.* Compoziția minerală a hematiilor variază de la specie la specie, avînd totuși un caracter comun, acela de a fi total diferită, ca distribuție procentuală, de aceea a plasmiei. Dintre cationi,  $K^+$  reprezintă elementul preponderent, în medie 125 Eq/l (4,8 g/l, în medie, cu variație între 3,9—5,5 g/l) în timp ce  $Na^+$  are un nivel de numai 20 mEq/l iar plasma conține 142 mEq/l. De asemenea,  $Ca^{++}$  are un nivel de patru ori mai scăzut decît în plasmă (0,025 g/l). Dintre anioni, predomină  $Cl^-$  însă ca și la  $Na^+$ , într-o concentrație mult mai scăzută decît în plasmă, atîngînd nivelul de 50—60 mEq/l, în timp ce în plasmă el este de 103 mEq/l. De asemenea, anionul bicarbonic, cu o concentrație de 15 mEq, este mai scăzut decît în plasmă. În schimb, anionii organici — hemoglobina, acidul difosfogliceric, acidul adenosindifosforic — sînt în concentrație ridicată (75 mEq/l) în timp ce în plasmă sînt reprezentați numai prin proteine cu o concentrație de 15 mEq/l.

*Componente organice nehemoglobinice.* Prezentarea componentelor organice ale eritrocitului a fost împărțită în mod deliberat, în componente nehemoglobinice și hemoglobinice, deoarece datele biochimice referitoare la aceste substanțe fundamentale pentru funcția eritrocitului pot fi mai bine integrate în ansamblul biologiei moleculare a celulei, după descrierea particularităților metabolice și energetice ale acesteia.

În privința componentelor organice nehemoglobinice pot fi subliniate, de la început, cîteva aspecte discriminatorii față de alte țesuturi. Ureea ca și glucoza, are un nivel scăzut în raport cu valorile plasmatice, dar „in vitro” concentrațiile eritroplasmatică se egalează. Colesterolul este preponderent



în stare liberă, spre deosebire de plasmă în care 2/3 este esterificat. O caracteristică a compoziției eritrocitului este reprezentată de varietatea, repartiția și concentrația relativ mare a compuşilor fosforilați, nucleotizi, fosfolipide, acid 2,3-difosfoglicerat, hexozofosfați. Nivelul adenin-nucleotizilor este precumpănitor realizat prin prezența de ATP, ADP, NAD, NADH, NADP, NADPH.

Glutacionul sanguin este localizat — în totalitate — în eritrocite, atingând nivelul de 0,280—0,340 g/l. Forma sa redusă este preponderentă și importantă fiziologic ca activator al enzimelor tiolice și ca factor de întreținere a integrității membranei eritrocitare. El este păstrat în stare redusă sub acțiunea glutationreductazei, al cărei deficit determină un tip de anemie hemolitică. Este de reținut și faptul că cea mai mare parte din acidul nicotinic și amida sa circulantă se găsesc în eritrocit. Hematiile mai conțin și cantități mici de protoporfirine (0,3 mg/l) și urme de coproporfirine (0,02 mg/l).

**Enzime.** Bogăția enzimatică a eritrocitului este remarcabilă și profilată pe particularitățile sale metabolice și funcționale ce vor fi prezentate mai departe. Este de subliniat, în primul rând, prezența tuturor enzimelor glicolitice, bogăția caracteristică a eritrocitului în 2,3-difosfoglicerat-mutază care asigură sinteza acidului 2,3-difosfoglicerat (ciclul Rapoport-Luebering).

Enzimele glicolitice eritrocitare identice cu cele din alte țesuturi pot fi clasificate în trei categorii, în funcție de activitatea lor măsurată „in vitro” și raportată la un mililitru de celule:

— enzime cu activitate slabă, inferioară unui  $\mu\text{mol}/\text{minut}$  (hexokinaza, aldolaza, fosfofructokinaza);

— cu activitate medie, cuprinsă între 1—10  $\mu\text{mol}/\text{minut}$  (fosfohexoizomeraza, fosfoglucomutaza, enolaza, piruvatkinaza);

— cu activitate puternică, mai mare de 10  $\mu\text{mol}/\text{minut}$  (triozofosfatizomeraza, gliceraldehidfosfatdehidrogenaza, fosfogliceratkinaza, lactatdehidrogenaza).

Este de subliniat faptul că cele două kinaze (hexokinaza și fosfofructokinaza), ce catalizează reacțiile de fosforilare, producerea hexozomono- și difosfaților, în dauna ATP, au activitate slabă. În schimb, enzimele ce intervin în refacerea rezervelor de ATP (fosfogliceratkinaza, piruvatkinaza) au activitate puternică. Hematiile conțin, de asemenea, acetilcolinesterază cu acțiune specifică asupra acetilcolinei (spre deosebire de pseudocolinesteraza din ser), fosfataze, catalază, anhidraze carbonice. Acestea din urmă există în trei forme A, B, C și sunt metalenzime cu Zn (1 atom Zn/mol) cu o greutate moleculară de circa 30 000 daltoni. În electroforeza de zonă se deosebesc prin mobilitatea lor diferită, A fiind forma rapidă ce migrează la nivelul HbA<sub>2</sub> iar B și C, forme mai lente. Cantitativ enzima B este cea mai abundentă iar forma C cea cu specificitate maximă. În ultimul timp se atribuie acestor izoenzime importanță în patologia renală. Cu valoare funcțională în eritrocit sînt și enzimele șuntului-pentozic; în general, glucoza-6-fosfatdehidrogenaza cit și complexul enzimatic care asigură reducerea la hemoglobină a micilor cantități de methemoglobină (hemoglobină) formate în condiții normale. În aceste sisteme intervin patru enzime: NADH-dehidrogenaza (vechea diaforază), NADH-dehidrogenaza II, NADPH-dehidrogenaza A, NADPH-dehidrogenaza B. Cea mai activă în sistem — reprezentînd 2/3 din intervenția catalitică — este NADH-dehidrogenaza I, al cărei deficit determină methemoglobinemia, în timp ce carența acumulată a celorlalte trei nu este suficientă

pentru a determina apariția sindromului. În eritrocit se găsește, ca și în alte țesuturi, galactoză-1-fosfat-uridil-transferaza, al cărei deficit determină boala metabolică înăscută numită galactozemie (vezi capitolul privind metabolismul glucidelor).

#### XIV.3.1.3. Compartimentele funcționale ale eritrocitului

**Citosolul.** Prin fracționarea citolizatelor eritrocitare se obțin două componente: stroma și citosolul. Acesta este un lichid supernatant ce conține hemoglobina și celelalte proteine nehemoglobinice, enzimele glicolizei anaerobe și ale șuntului pentozic, catalaza, carbonicanhidrazele, glutatationul (2,3 m moli/l), compușii adenilici (în special ATP, ADP, 3 mmoli/l), 2,3-difosfogliceratul (4—5 mmoli/l). La periferia globulului roșu se găsește o proteină contractilă, spectrina, care menține forma biconcavă a discului.

**Stroma.** Este alcătuită preponderent din membranele celulare și, în mai mică proporție, din ultrastructuri interne. Ea cuprinde proteine (60—70%) și lipide (30—40%), în special cefaline (fosfatidiletanolamină, fosfatidilserină), lecitine, sfingomieline, colesterol, esteri de colesterol, glicolipide și gliceride. Principalul component proteic al stromei este o oligoproteină, reticulina. Glicoforina este glicoproteină membranară.

Delipidări succesive ale reticulinei, prin eteri și alcooli, au permis stabilirea unor concluzii referitoare la compoziția acestei glicoproteine și a derivatelor sale. Reticulina este alcătuită din lipide eterosolubile și elinină care antrenează cea mai mare parte a antigenelor de grup sanguin. Din elinina delipidată prin alcooli se obține stromatina.

**Membrana eritocitară.** Membranele preparate într-o stare de puritate înaintată (fără hemoglobină) prezintă anumite activități enzimatice. Fosforibo-izomeraza, fosfocetopentozo-epimeraza, transectolaza, prezente în membrane, alcătuiesc o secvență ce dă naștere fosfogliceraldehidei. Enzimele fosfogliceraldehid-dehidrogenaza și fosfogliceratkinaza, catabolizând oxidarea aldehidei menționate, permit formarea de ATP. Cele două enzime sînt orientate într-un anumit fel și anume: dehidrogenaza către interiorul globulului roșu, iar kinaza către mezostratul fosfolipidic al membranei. Această dispoziție favorizează utilizarea intracelulară a fosfogliceraldehidei și folosirea ortofosfaților pentru a forma în membrană ATP. Este posibil ca acest ATP intramembranar, direct accesibil ATP-azei locale, să constituie substratul de elecție care furnizează energie transportului activ de  $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$  prin membrana eritocitară. Cu probabilitate se admite că 1/3 din energia produsă prin glicoliza anaerobă este valorificată în procesul de transport activ al cationilor prin membrană. Membrana eritocitară este impermeabilă pentru fosfoderivații ce se formează în timpul glicolizei, în timp ce este permeabilă pentru glucoză și acid lactic. Ea oprește, de asemenea, nucleotizii și piridinucleotizii, care nu difuzează în plasmă decît ca urmare a alterării proprietăților fizico-chimice ale membranei. Încercările de terapie enzimatică substitutivă în unele tezaurozmoze lizomozale (glicoesfingolipidoze) aplică sechestrarea enzimei deficitare în hematii autologe, în care membrana eritocitară funcționează ca și cea din liposomii artificiali.



#### XIV.3.1.4. Metabolismul eritrocitului matur

**Caractere particulare.** Deși eritrocitul posedă o intensă activitate metabolică el are următoarele trăsături caracteristice :

- consum slab de oxigen și anume, 5 l/h/ml de hematii ;
- absența sistemului citocromic, cu dispariția — în cursul maturității — a enzimelor ciclului acizilor tricarboxilici, cu excepția a patru dintre ele : fumaraza, malatdehidrogenaza, aconitaza, izocitratdehidrogenaza ;
- degradarea glucozei pe două căi și anume : 92% pe cale glicolitică Embden-Meyerhof și 8—11% pe calea șuntului pentozic (formatoare de  $\text{NADPH}_2$ ). După alți autori, numai 4,3% din glucoză se degradează pe această cale. După Cartier șuntul pentozic eritrocitar reprezintă doar un reliefat metabolic ;

- prevalența glicolizei anaerobe ca sursă de energie, cu utilizare exclusivă a glucozei ca substrat ;

- în cursul glicolizei anaerobe în eritrocit se acumulează la concentrație ridicată doi fosfoderivați, ce nu există decît în stare de urme în alte țesuturi : a) 2,3-difosfogliceratul generat prin ciclul Rapoport-Luebering, derivat al căii glicolitice, din care o parte este combinată cu AMP sub formă de adenilat-2,3-difosfoglicerat ; b) glucozo-1,6-difosfatul sau manozo-1,6-difosfatul\* ;
- procesele metabolice eritrocitare fac posibile : menținerea structurii celulare, păstrarea hemoglobinei în stare funcțională, menținerea compoziției substanțelor organice în proporțiile specifice eritrocitului, menținerea diferenței de concentrație eritro-plasmatică a cationilor.

**Glicoliza anaerobă** (ciclul Rapoport-Luebering al 2,3-difosfogliceratului). În acest subcapitol se vor scoate în evidență particularitățile glicolizei anaerobe eritrocitare, cu referire la semnificația funcțională cinetică și la mecanismele de reglare a procesului.

Caracteristica esențială a metabolismului glicolitic eritrocitar este tocmai existența unei derivații a căii glicolitice principale, numită ciclul Rapoport-Luebering, care conduce la acumularea de 2,3-difosfoglicerat. Astfel, alături de calea principală a glicolizei în care, prin acțiunea fosfoglicerat kinazei, ADP este fosforilat în ATP, există și această a doua cale ce nu produce ATP. Sinteza de 2,3-DPG implică acțiunea unei 1,3-DPG mutaze (M) ce folosește 3-PG drept coenzimă, transformind ireversibil 1,3-DPG în 2,3-DPG (fig. XIV.1). Acesta din urmă este hidrolizat în 3 PG printr-o fosfatază specifică 2,3-DPG-fosfataza (sau 2,3 fosfoglicerataza), puternic inhibată de produsul reacției, 3-PG. Constanta Michaelis ( $K_m$ ) a acestei enzime față de substratul său 2,3-DPG este mare ( $6 \times 10^{-4}$  M), deci enzima are afinitate mică față de substrat. Enzima este limitantă a ciclului Rapoport-Luebering, justificînd, prin această poziție a sa, acumularea de 2,3-DPG în condiții de echilibru fiziologic eritrocitar. Conținutul eritrocitar în 2,3-DPG variază cu specia mamiferelor. Rezerva ridicată de 2,3-DPG este însoțită și de o valoare mare a concentrației  $\text{K}^+$  eritrocitar și invers. Ciclul fosfogliceratului are caracter autocatalitic. Astfel 3-fosfogliceratul este în același timp catalizator al reacției

\* Cele două tipuri de compuși fosforici 2,3-DPG și GL-1,1,6-DP, intervin în cantități infime, cu rol de coenzime, în reacții fosfomutazice. Fenomenul se petrece însă și în alte celule.



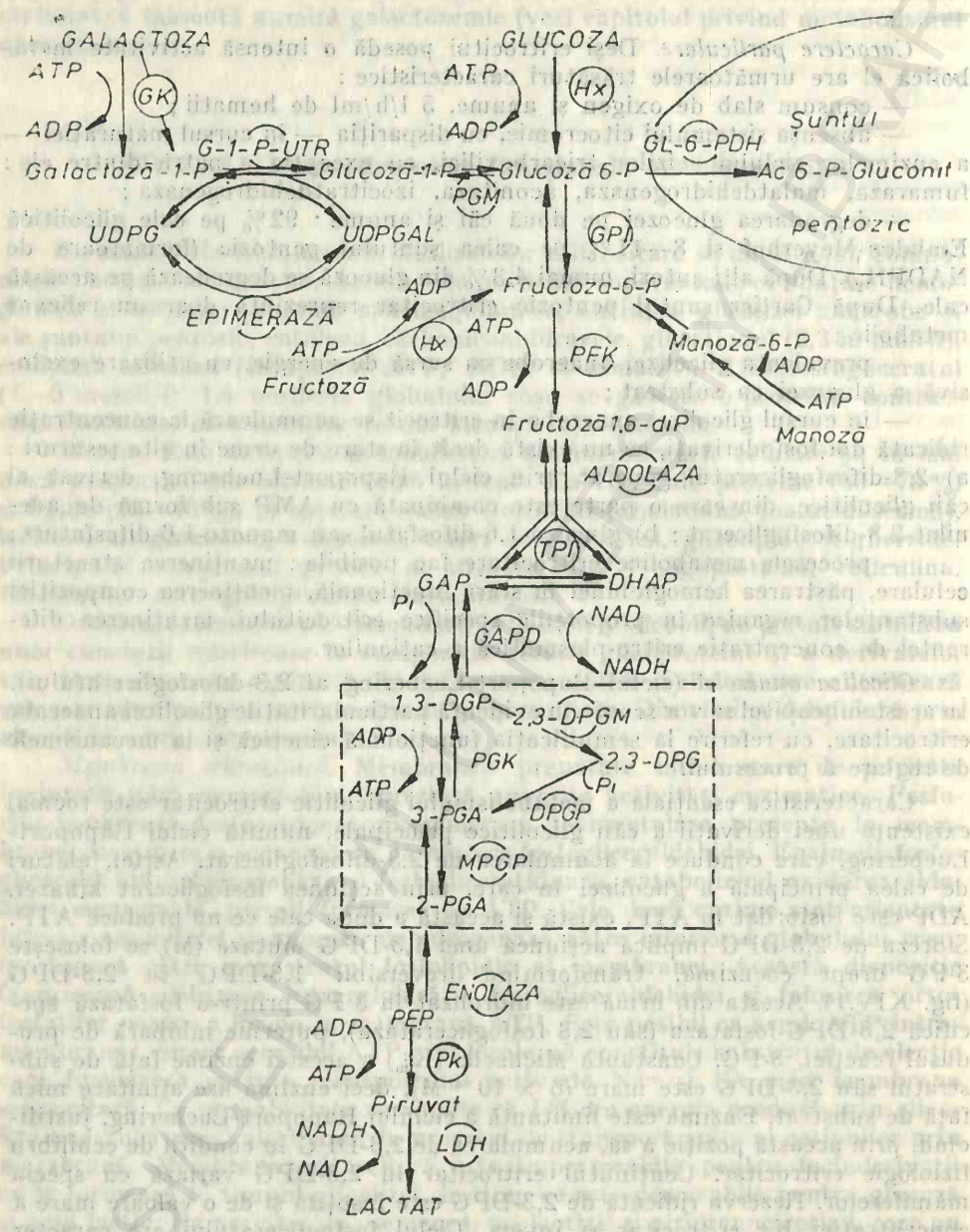


Fig. XIV.1 — Glicoliza anaerobă eritocitară cu derivația sa caracteristică, ciclul 2—3 difosfogliceratului (Rapaport-Luebering).

mutazice prin care se formează 2,3-difosfoglicerat, inhibitor al reacției 2,3-fosfoglicerat-fosfatazei și substrat al fosfogliceratmutazei. Semnificația fiziologică a ciclului Rapoport-Luebering, cu acumularea de 2,3-DPG, este încă discutată. Actualmente sînt plauzibile patru interpretări ce pot fi menționate și luate în considerație și anume:

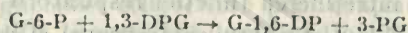
a) Esterul constituie o rezervă energetică (un fel de fosfagen stabil cum spune Cartier), utilizabilă în condiții de inhibare a degradării glucozei. În singele conservat formarea lactatului are loc inițial, în dauna 2,3-DPG care dispare complet în primele două săptămîni de conservare la +4°C. Utilizarea esterului frînează epuizarea rezervelor de ATP. Din 3-fosfoglicerat se poate produce suplimentar ATP prin acțiune piruvatkinazică.

b) Difosfogliceratul joacă un rol în transportul activ al cationilor, cînd glicoliza este inhibată (diminuare de ATP), ieșirea  $K^+$  din eritrocit este reglată prin degradare de 2,3-DPG.

c) Se atribuie ciclului fosfogliceratului un rol în reducerea methemoglobinei; acumularea de 2,3-DPG, pornind de la PGA, are loc paralel cu formarea de NADH, disponibil pentru activitatea NADH-methemoglobina-reductazei.

d) La concentrația sa intraeritocitară 2,3-DPG lucrează cu un puternic regulator al proprietăților alesterice ale hemoglobinei, favorizînd rolul de donator de oxigen al acesteia către țesuturi în condiții fiziologice.

Referitor la producerea și acumularea de glucozo-1,6-difosfat pot fi scoase în evidență următoarele aspecte: sinteza de Gl-1,6-DP s-ar face plecînd de la Gl-1-P sau Gl-6-P, printr-o reacție kinazică. Dar fosforilarea nu se face pe seama ATP-ului, ci a 1,3-DPG printr-o reacție de transfosforilare:



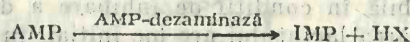
Rolul metabolic al G-1,6-DP este însă obscur și acumularea sa nu poate fi corelată cu transformarea glucozei în glicogen, hematia fiind practic lipsită de glicogen. Bartlett semnalează în eritrocit și prezența manozo-1,6-difosfatului (M-1,6-DP), compus care nu a fost găsit niciodată în țesuturile animale.

*Echilibrul dintre cele două secvențe metabolice, glicoliza anaerobă și calea difosfogliceratului.* Acest echilibru este foarte important și reglat prin concentrația în ADP. Cînd raportul ATP/ADP este scăzut, reacția kinazică suscitată transformă 1,3-DPG în 3-PG (care inhibă 2,3-DPG-fosfataze). Acesta generează lactat cu sintetizarea a două molecule de ATP. Cînd valoarea raportului ATP/ADP este mare, predomină acumularea de 2,3-DPG. În globulul roșu matur, cînd nucleotizii adenilici sînt în concentrație fiziologică, ATP are valoarea cea mai ridicată și raportul ATP/ADP este de asemenea crescut. Factorul hotărîtor al echilibrului adenilic este însă ADP. Acesta poate fi transformat în ATP prin două sisteme enzimatiche prezente în eritrocit dintre care unul activează în ciclul glicolitic (etapa fosforilării de substrat), iar celălalt este reprezentat prin reacția adenilatkinazică reversibilă.

Prin aceste două mecanisme nivelul ridicat al ATP-ului este menținut deoarece ele au caracteristici funcționale complementare. Fosforilarea glicolitică este complexă, activă și lentă dar poate avea o durată prelungită pe măsura nevoilor de ATP. Procesul glicolitic însuși este supus mecanismelor de reglare adaptivă ce acționează în diferite puncte ale secvenței metabolice



(asupra cărora se revine mai departe) modelînd consumul de glucoză, după variațiile concentrației de ATP. Reacția adenilkinazică reprezintă un sistem „tampon energetic” pasiv, cu o acțiune limitată, prin degradarea rezerve de compuși adenilici pe care o poate declanșa. Refacerea rezervei de ATP este însoțită de formarea stoechiometrică de AMP, care declanșează însă deaminarea nucleotizilor pînă la hipoxantină (HX):



De altfel, din acest motiv, în cursul conservării singelui, nivelul ATP coboară după prima săptămînă de echilibrare a celor două sisteme complementare, echilibrare implicată în metabolismul nucleotizilor adenilici eritrocitari (fig. XIV.2).

*Bilanțul energetic al glicolizei anaerobe eritrocitare* corespunde celui stabilit pentru celelalte țesuturi cu o variație de energie liberă  $\Delta G' = -52,5$  Kcal/mol de glucoză. Cele mai importante denivelări de energie în eritrocit, ca de altfel și în celelalte celule, sînt localizate la nivelul hexokinazei, fosfofructokinazei, piruvatkinazei, enzime care catalizează reacții depărtate de starea lor de echilibru. Randamentul energetic al utilizării energiei glicolitice depozitată în ATP (14,6 Kcal/mol glucoză) este aproximativ 30 %. Trebuie arătat totuși că în ciclul Rapoport-Luebering conversiunea 1,3-DPG în 2,3-DPG ( $-3,45$  Kcal) și hidroliza de 1,3-DPG în 3-PG ( $-11$  Kcal) corespunde unei pierderi de  $-14,3$  Kcal, echivalent cu un mol de ATP. Cantitatea de energie produsă este însă suficientă pentru întreținerea funcției respiratorii a hemoglobinei, a forme discoidale a hematiei, a structurii membranei și menținerii homeostaziei ionice. Schimburile gazoase de  $O_2$  și  $CO_2$  sînt pasive și se fac numai prin denivelările gradientilor de concentrație prin simplă difuziune.

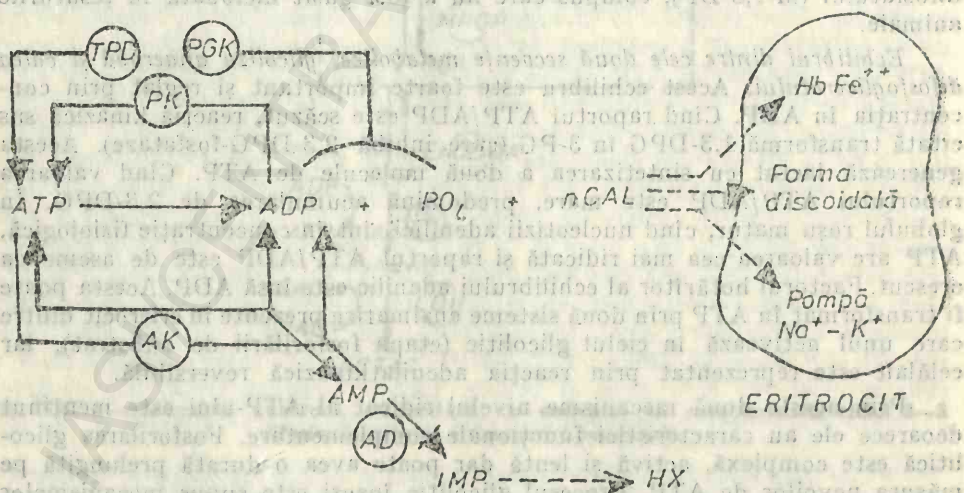


Fig. XIV.2 — Mecanismul echilibrării nucleotizilor adenilici eritrocitari.



#### XIV.3.1.5. Mecanismul de reglare a glicolizei anaerobe

Acest mecanism a fost expus în esență, se subliniază aici doar trăsături caracteristice care derivă din ansamblul metabolic și funcțional al globulului roșu. Dintre acestea, pot fi menționate :

— reducerea numărului de căi metabolice cu punct de plecare glucozo-6-P, de la patru la două. În celelalte țesuturi glucozo-6-fosfatul reprezintă un punct de răscruce metabolică în care se întretaie patru căi : glicogenogeneza, liberarea glucozei, calea glicolitică a hexozodifosfaților și calea oxidativă a pentozofosfaților. În eritrocit GL-6-P este solicitat numai de ultimele două căi metabolice, dintre care cea glicolitică este prevalentă ;

— în globulul roșu sinteza proteinelor enzimatică nu este reglată prin inducție sau represie, deoarece biosinteza acestor proteine nu mai poate fi realizată :

— dintre toate enzimele glicolitice cele trei kinaze — HK, PFK și PK — influențează viteza de degradare a glucozei, funcționând ca enzime limitante. Aceste trei reacții kinazice se desfășoară departe de starea de echilibru, fără să atingă deci valoarea maximă a potențialității lor, limitând astfel activitatea globală a secvenței metabolice. Ele au în comun câteva caracteristici ce justifică rolul lor ca factori de reglare a glicolizei anaerobe : a) au activitate slabă (mai ales HK și PFK) ; b) sint sisteme la care participă ATP (sau ADP), sisteme fosforilante, a căror activitate cere prezența ionilor de  $Mg^{++}$  ; c) au caracter alosteric, fiind controlate prin anumiți metaboliți intermediari ai glicolizei anaerobe, după o cinetică de tip alosteric. În fig. XIV.3 este redată reglarea alosterică a glicolizei eritrocitare prin conținutul de GL-6-P, FDP. Din cele trei enzime, PFK (îreversibilă, unidirecțională) apare ca etapa reglatoare cea mai importantă a glicolizei anaerobe eritrocitare. Marea sensibilitate a enzimei la variațiile de concentrații mici ale efecturilor sugerează că echilibrul între inhibiția prin ATP și dezinhibiția prin AMP-ADP (și  $PO_4^{3-}$ ) modelează intensitatea glicolizei.

Piruvat-kinaza, enzimă unidirecțională, ce catalizează îreversibil o etapă de importantă denivelare energetică, constituie un sistem reglator foarte eficace. Ea există în două forme moleculare interconvertibile, una de cinetică michaeliană, iar alta de cinetică alosterică (prezentă în eritrocit). Datele cinetice privind enzimele reglatorii ale glicolizei sînt încă incomplete. Foarte interesante,

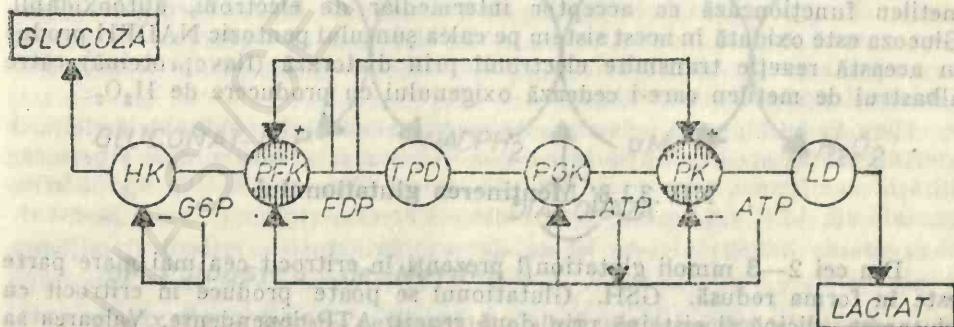


Fig. XIV.3 — Reglarea alosterică a glicolizei eritrocitare (adaptare după Cartier).

și încă în curs de studiu, sînt încercările de introducere a dimensiunii timp în cercetarea activității celor două kinaze reglatoare, ce se încadrează în sistemul de oscilații biochimice a căror explorare a fost inițiată de Hess și Brand.

#### XIV.3.1.6. Calea șuntului pentozic

Această cale este importantă pentru biologia eritrocitului, fiind legată de raportul ce se stabilește prin intermediul NADPH pe care îl generează, cu reacțiile ce condiționează nivelul optim al glutatationului redus și în parte al reducerii methemoglobinei (fig. XIV.4). Echilibrul între nucleotizii piridinici, NAD, NADP — formele lor oxidate și reduse — nu este încă riguros stabilit, datorită dificultăților de ordin tehnic. Dintre cele două sisteme coenzimatice, cuplul NAD-NADH este corelat principal cu glicoliza anaerobă, iar cuplul NADP-NADPH este strins legat de oxidarea glucozei pe calea șuntului pentozic. În ansamblu însă concentrația acestor nucleotizi piridinici eritrocitari este de 7—10 ori mai mică decît aceea a ficatului, organ metabolic foarte activ. O caracteristică a eritrocitului este preponderența formei oxidate NADP, în timp ce raportul NADPH/NADP este supraunitar în celelalte țesuturi.

#### XIV.3.1.7. Utilizarea oxigenului în eritrocit

Deși consumul de oxigen al eritrocitului este foarte mic în raport cu al altor țesuturi, el este folosit în reacții de autooxidare a căror importanță este recunoscută pentru biologia eritrocitului. Fenomenele oxidative în care oxigenul este utilizat în metabolismul eritocitar sînt următoarele: autooxidarea flavoproteinelor, glutatationului prin intermediul methemoglobinoreductazei (diaforazei) și probabil și a glutatation-reductazei, precum și oxidarea, prin intermediul flavoproteinelor, a NADH produs prin glicoliză anaerobă. Într-o mică măsură se petrece și oxidarea hemoglobinei în methemoglobină. Auto-oxigenarea albastrului de metilen într-un sistem de reacție cu eritrocite și glucoză are drept urmare creșterea consumului de oxigen (Barron Harron Warburg). Mecanismul reacției este prezentat în fig. XIV.5. Albastrul de metilen funcționează ca acceptor intermediar de electroni, autooxidabil. Glucoza este oxidată în acest sistem pe calea șuntului pentozic NADPH produs în această reacție transmite electronii prin diaforază (flavoproteină) către albastrul de metilen care-i cedează oxigenului cu producere de  $H_2O_2$ .

#### XIV.3.1.8. Menținerea glutatationului

Din cei 2—3 mmoli glutatation/l prezenți în eritrocit cea mai mare parte este în forma redusă, GSH. Glutatationul se poate produce în eritrocit cu glutamat, glicină și cisteină prin două reacții ATP-dependente. Valoarea sa funcțională pentru eritrocit este hotărîită prin gruparea SH a cisteinei, datorit



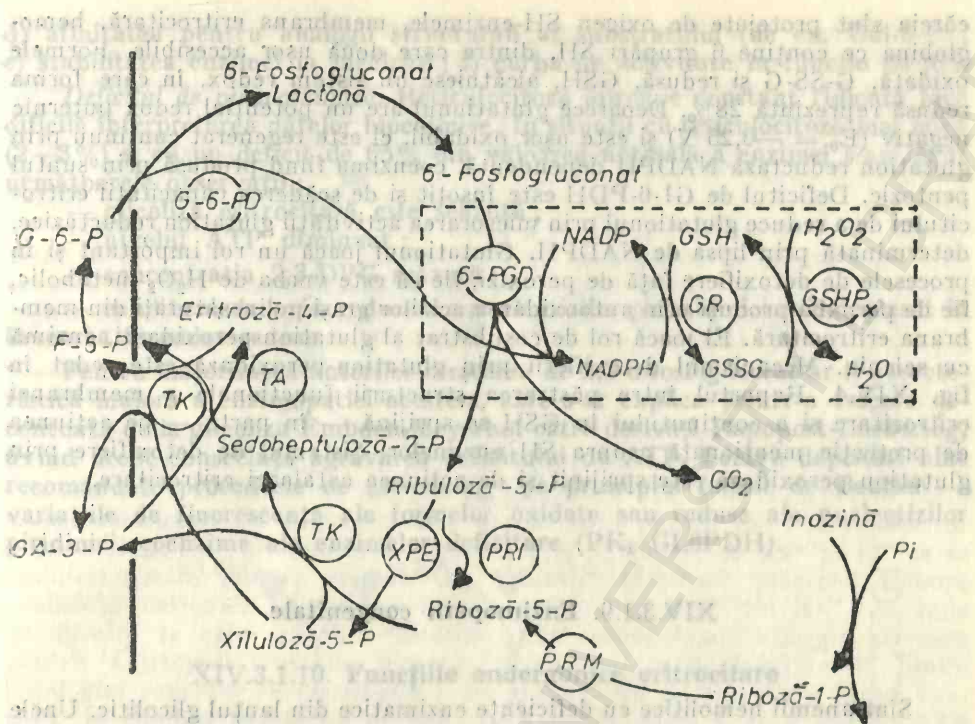


Fig. XIV.4 — Șuntul pentozic: corelația cu metabolismul glutatitionului.

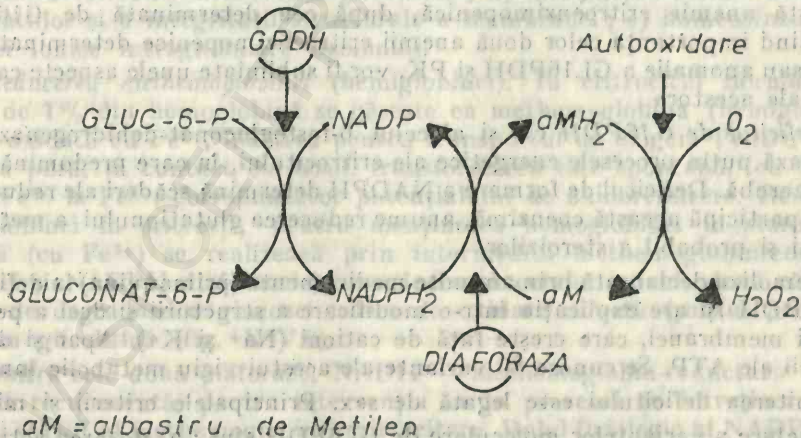


Fig. XIV.5 — Oxidarea autocatalitică a albastrului de metilen în eritrocit.



căreia sînt protejate de oxigen SH-enzimele, membrana eritrocitară, hemoglobina ce conține 6 grupări SH, dintre care două ușor accesibile. Formele oxidată, G-SS-G și redusă, GSH, alcătuiesc un sistem redox, în care forma redusă reprezintă 28 %. Deoarece glutat ionul are un potențial redox puternic negativ ( $E'_0 = -0,25 \text{ V}$ ) și este ușor oxidabil, el este regenerat continuu prin glutat ion reductază NADPH dependentă, coenzima fiind produsă prin șuntul pentozic. Deficitul de G1-6-PDH este însoțit și de scăderea capacității eritrocitului de a reduce glutat ionul prin micșorarea activității glutat ion reductazei, determinată prin lipsa de NADPH. Glutat ionul joacă un rol important și în procesele de detoxifiere față de peroxizi, fie că este vorba de  $\text{H}_2\text{O}_2$  metabolic, fie de peroxizi produși prin autooxidarea acizilor grași polinesaturați din membrana eritrocitară. El joacă rol de cosubstrat al glutat ion-peroxidazei, enzimă cu seleniu. Mecanismul detoxifierii prin glutat ion-peroxidază este redat în fig. XIV.4. Raportul între păstrarea structurii funcționale a membranei eritrocitare și a conținutului în GSH se sprijină — în parte — pe acțiunea de protecție menționată asupra SH enzimelor. Sistemul de detoxifiere prin glutat ion peroxidază este sprijinit și de acțiunea catalazei eritrocitare.

#### XIV.3.1.9. Enzimopatii congenitale

Sînt anemii hemolitice cu deficiențe enzimatice din lanțul glicolitic. Unele au o frecvență relativ mai mare. Acestea sînt cele legate de deficitul sau anomalile de G16PDH și PK care sînt de altfel studiate din punct de vedere cinetic și metabolic. Sînt cunoscute și deficiențele de hexokinază (cu glicoliza scăzută la 25 % din valoarea normală), de hexozofosfatizomerază, de triozofosfatizomerază (extrem de rară), de 2, 3-difosfogliceratmutază, cea mai bine definită biochimic, localizată în ciclul Rapoport-Luebering (cu scăderea rezervelor de 2,3-difosfoglicerat). Deficitul de piruvatkinază provoacă cea mai frecventă anemie eritroenzimopenică, după cea determinată de G16PDH. Dată fiind importanța celor două anemii eritroenzimopenice determinate prin deficit sau anomalie a GL16PDH și PK, vor fi subliniate unele aspecte caracteristice ale acestora.

*Deficitul de G16PDH* cît și al celui 6-fosfogluconat-dehidrogenază, influențează puțin procesele energetice ale eritrocitului, în care predomină glicoliza anaerobă. Deficitul de formare a NADPH determină scăderi ale reducerilor la care participă această coenzimă, anume reducerea glutat ionului a methemoglobinei și probabil a steroizilor.

Hemoliza declanșată prin anumite medicamente (primaquina) la defictarii în G16PDH își are explicația într-o modificare a structurii și deci a permeabilității membranei, care crește față de cationi ( $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$ ). Apar și diferite anomalii ale ATP. Se cunosc 80 variante ale acestui viciu metabolic înăscut. Transmiterea deficitului este legată de sex. Principalele criterii și mijloace de deosebire a variantelor moleculare de GL6PDH sînt : a) dozarea activității enzimatice (test optic); b) mobilitatea electroforetică (electroforeză de zonă, în special în gel de amidon); c) determinarea  $K_m$  față de G1-6-P și NADP;

- d) afinitatea pentru analogii structurali ai substratului (de ex. Gal-6-P);
- e) stabilitatea enzimei la încălzire; f) curba de activitate în funcție de pH.

**Deficitul de piruvatkinază.** Reticulocitoza aproape constant ridicată face dificilă interpretarea datelor biochimice. În situații cu reticulocitoză mai mică (2—3%) și cu un deficit de 65% din valoarea normală a enzimei s-au făcut următoarele observații:

- glicoliza eritrocitară este scăzută;
- nivelul ATP diminuat;
- concentrația 2,3-DPG scăzută;
- echilibrul de oxidoreducere a nucleotizilor pirimidinici este deplasat în favoarea formelor reduse.

Pentru majoritatea autorilor creșterea de 2,3-difosfoglicerat ar fi caracteristica majoră a enzimopatiei acesteia, care s-ar explica printr-o trecere accentuată de la glicoliza Embden-Meyerhof către derivați Rapoport-Luebering, având drept consecință agravarea deficitului de ATP. Pentru depistări sînt recomandate procedeele de „screening” pe principiul folosit de Beutler — variațiile de fluorescență ale formelor oxidate sau reduse ale nucleotizilor piridinici, coenzime ale enzimelor deficitare (PK, GL6PDH).

#### XIV.3.1.10. Funcțiile endergonice eritrocitare

Nevoile energetice eritrocitare sînt destul de mici, celula fiind în incapacitate de a executa sinteze puternic endergonice. Funcțiile endergonice pe care energia glicolică le alimentează (după cum s-a arătat) sînt: a) păstrarea hemoglobinei în stare redusă, pentru ca ea să-și poată exercita funcția respiratorie, de transportor de  $O_2$  și  $CO_2$ , preponderent dependentă de formarea de NADH în secvența glicolică; b) menținerea formei discoidale a hematiilor și a integrității structurale a membranei; c) homeostazia compoziției ionice intraglobulare (izoionia).

**Reducerea methemoglobinei** (hemiglobinei). În eritrocitul normal, mai puțin de 1% din hemoglobină se găsește ca methemoglobină (hemiglobină), formă oxidată cu  $Fe^{3+}$ , inactivă pentru transportul de oxigen. Pentru hemoglobina pură, în contact cu aerul, transformarea este spontană, cu trecere de la  $Fe^{2+}$  la  $Fe^{3+}$ , corespunzător potențialului de oxidoreducere. Reducerea hemoglobinei în eritrocit, pentru menținerea hemoglobinei în stare funcțională (cu  $Fe^{2+}$ ) se realizează prin intermediul methemoglobinoreductazei (NADH și NADPH diaforazele), care lucrează corelat cu cele două căi energetice de degradare a glucozei, calea de oxidare directă (șuntul pentozic), și calea glicolică (fig. XIV.6).

Dintre cele două diaforaze, NADH — methemoglobin-reductaza — este unanim recunoscută, pentru intervenția sa în procesul de întreținere a nivelului scăzut al methemoglobinei eritrocitare. Rolul fiziologic al NADPH-diaforazei în reducerea methemoglobinei a fost stabilit definitiv de Sass și colab. care au studiat proba cu albastru de metilen în cazul deficit enzimatic al GL6PDH. Proba cu albastru de metilen este negativă datorită lipsei de



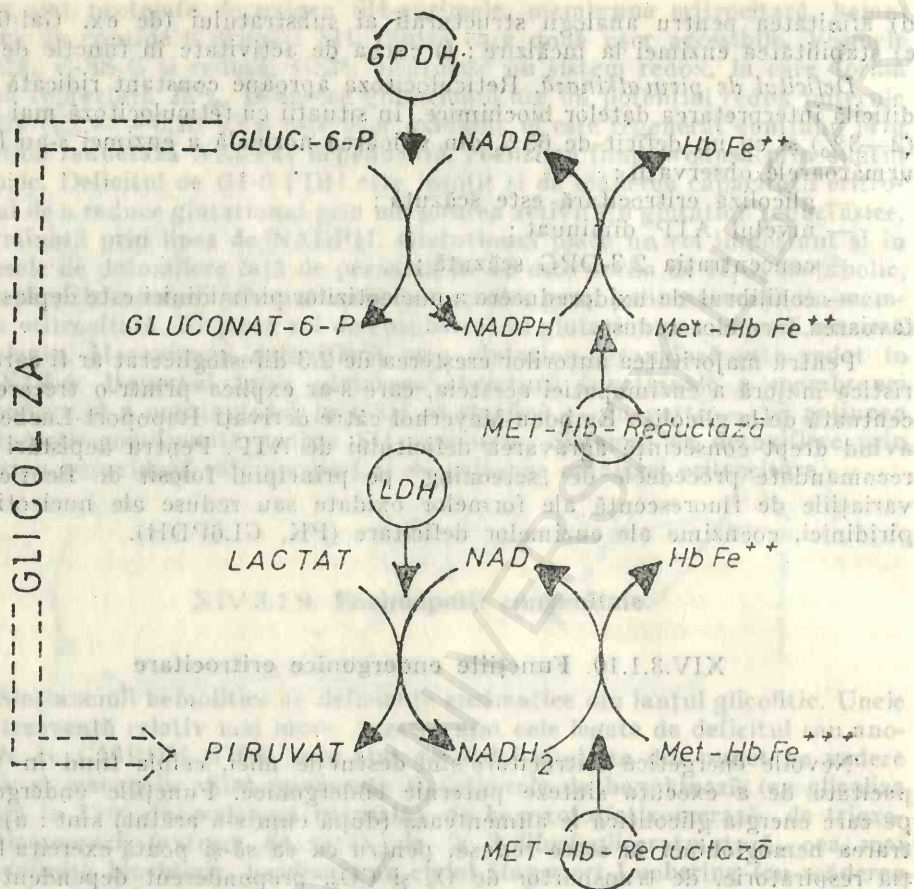


Fig. XIV.6 — Reducerea methemoglobinei i (hemiglobinei) eritrocitare.

NADPH, antrenat prin deficitul enzimei, care declanșează oxidarea glucozei pe calea șuntului pentozic. Reacția a devenit testul Brewer, pentru depistarea indirectă a deficitului de G6PDH. NADPH-diaforaza este un auxiliar prețios al tratamentului methemoglobinemiilor dobândite, atât toxice cât și congenitale, prin deficit de NADH-diaforază. Administrarea albastrului de metilen — per os sau pe cale intravenoasă — determină reducerea rapidă a methemoglobinei prin intermediul NADPH-diaforazei.

**Menținerea formei discoidale.** Forma discoidală biconcavă a hematitelor normale este legată de doi factori determinanți: integritatea membranei și rezerva de ATP. Membrana eritocitară poate fi încadrată în concepția de unitate de structură și funcție a sistemelor de membrană, în sensul sugerat de Green și Fleish, fie că este vorba de membrană plasmală, mitocondrială, microsomală sau cloroplasmică. Conform acestei concepții, membrana constituie o barieră de permeabilitate, capabilă de transport activ de ioni contra unui gradient de concentrație. Membranele sînt dotate cu proprietăți contractile și posedă activitate ATP-azică. Aceste caractere se găsesc în mem-

brana eritocitară. Încă din 1954 a fost sugerată ipoteza că membrana eritocitară ar poseda proprietăți contractile. În 1963 a fost extras din membranele eritrocitare un complex proteic, compus dintr-o eritroactină și eritromiozină, activabile prin cefaline. Acest complex, dotat cu activitate ATP-azică și proprietăți contractile, pare să fie implicat în transportul activ de  $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$ . Referitor la cel de al doilea factor, încă din 1961 Nakoa și colab. au arătat că forma biconcavă a hematiei este legată de prezența ATP-ului. În cursul conservării singelui, pe măsură ce scade rezerva de ATP, eritrocitul ia o formă crenelată și apoi sferică. Modificările de formă apar când rezerva de ATP scade sub 50% din conținutul inițial. Modificările morfologice de tipul acesta pot fi reproduse, prin incubarea globulelor roșii cu  $\text{NaF}$  — inhibitor al glicolizei anaerobe — și prezervate prin adăugarea unui amestec de adenină, inozină și anioni fosforici pentru refacerea rezervei de ATP.

*Homeostazia compoziției ionice eritrocitare.* Dintre cele trei funcții endergonice eritrocitare, menținerea izoioniei eritrocitare este aceea care consumă cea mai mare cantitate de energie. Se realizează atât prin transportul activ transmembranar, cât și prin difuzie pasivă (mai puțin). Rezultanta acestor două acțiuni este gradientul de concentrație al ionilor de  $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$  ce se stabilește între plasmă și eritrocit. Inhibiția glicolizei anaerobe tulbură echilibrul cationic. Viteza de funcționare a „pompei  $\text{Na}^+\text{K}^+$ ” depinde de nivelul la care glicoliza menține ATP intracelular. Energia necesară pentru a acoperi travaliul osmotic și electric, care menține în limite fiziologice raportul de distribuție a cationilor, este de 7,35 Kcal (după Passov). În condiții fiziologice de hidroliză intraglobulară a unui mol de ATP se eliberează 14,3 Kcal. Deci randamentul procesului este de circa 54%, utilizarea energetică pentru menținerea repartiției fiziologice a ionilor de  $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$ . La rîndul său, intensitatea glicolizei poate varia în funcție de nevoia energetică provocată prin variațiile transportului activ. Interacțiunea reciproc regulatorie dintre glicoliză și permeabilitatea selectivă a membranei este — cu mare probabilitate — localizată la nivelul membranei. Activitatea sistemelor enzimactice TPD (triozofosfat-dehidrogenaza) și PGK (fosfogliceratkinaza) intramembranar este strîns dependentă de nivelul intracelular al ADP, care intervine ca acceptor de acid fosforic, în reacția fosfogliceratkinazică, cu refacerea rezervelor de ATP funcțional necesare. De altfel, însăși reglarea consumului de glucoză este determinată de variațiile raportului ATP/ADP și concentrația ionului  $\text{PO}_4^{3-}$ . Efectul activator al anionului ortofosforic asupra glicolizei nu se manifestă decît asupra globului roșu intact (nu și în citolizat). Se socotește verosimil că activitățile fosfataze legate de membrană — în special ATP-aza — să asigure un aport continuu de ioni  $\text{PO}_4^{3-}$  în dauna fosfaților organici. Prezența ortofosfaților accelerează intrarea glucozei în secvența glicolitică anaerobă și conversiunea sa în fructozodifosfat. Efectul accelerator este localizat la nivelul celor două etape ireversibile ale formării hexozofosfaților, astfel ortofosfații ar reduce inhibiția HK prin G16P (Rose) și inhibiția PFK prin ATP. Însă singura reacție din calea glicolitică ce utilizează direct ortofosfații (triozofosfat-dehidrogenaza) nu este influențată de concentrația fosfaților. O concentrație ridicată de fosfați (în ambianță), superioară nivelului de 30 mM, inhibă glicoliza la nivelul etapelor inițiale (între glucoză și fosfogliceraldehidă, după Chapman). Observația poate fi corelată cu ceea ce se observă în cursul con-



servării singelui în ACD (acid citric-dextran): acumulare de fosfați, scăderea fosforului organic și a consumului eritrocitar de glucoză. Intervenția fiziologică a ionilor fosforici în reglarea glicolizei eritrocitare este totuși puțin importantă, deoarece concentrațiile pentru care acest efect se manifestă „in vitro” sînt foarte departe de concentrațiile fiziologice ale fosforului eritrocitar (0,4 mM) și plasmatic (1 mM).

#### XIV.3.1.11. Hemoglobine

Hemoglobina este pigmentul de natură heteroproteică a cărei sinteză continuă în eritrocit chiar în stadiul său matur și care, prin proprietățile sale fizico-chimice, asigură funcția fundamentală a eritrocitului de transportor gaze ( $O_2$  și  $CO_2$ ) între plămîni și țesuturi. Această hemoproteină reprezintă 1/3 din masa celulară eritocitară. În singele arterial hemoglobina se găsește numai ca oxihemoglobină. Funcțiile fundamentale ale hemoglobinei sînt:

- transportul oxigenului în sînge, cu alimentarea arderilor tisulare;
- participarea la transportul  $CO_2$  în sînge;
- participarea la menținerea echilibrului acido-bazic și concentrației ionilor de  $H^+$  în spațiul extracelular, luînd parte la acțiunea de tamponare, în calitate de component al sistemelor tampon din sînge. Cantitatea de hemoglobină totală de care dispune un organism cu o greutate de 70 kg și un volum sanguin de 5 litri este de 800 g, cu o producție medie de circa 6,35 g/zi. Concentrația fiziologică de circa 15 g% de sînge corespunde unei încărcături medii de 32 pg\* (valori extreme: 27—34 pg) pe eritrocit. Scăderea concentrației hemoglobinei este denumită hipocromie (în anemii cu lipsă de Fe) iar creșterea concentrației se numește hiperchromie (în anemii cu lipsă de vitamină  $B_{12}$  tip anemie pernicioasă).

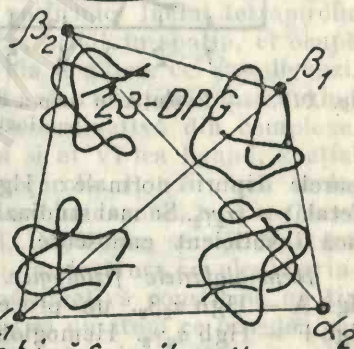
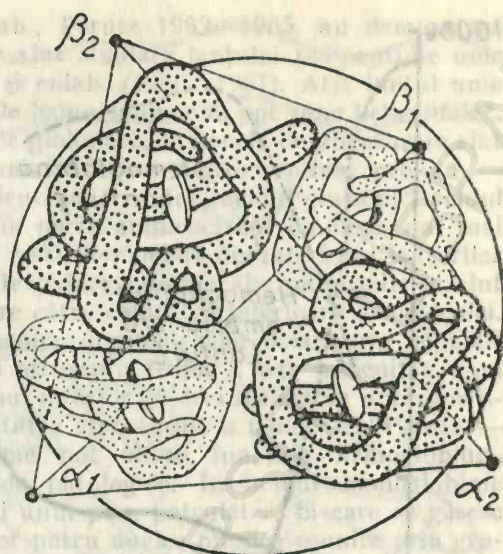
*Bazele moleculare și electronice ale proprietăților și funcțiilor hemoglobinei.* Hemoglobina este o hemoproteină ce are o componentă globinică și o grupare prostetică, hemul, în care  $Fe^{2+}$  este legat de protoporfirina IX, provenită din protoporfirina III (1,3,5,8-metil-2,4-vinil-6,7-metilpropionat porfirină). Se cunosc 15 izomeri ai protoporfirinei III, dintre care cel prezent în hemoglobină este cel mai important, el regăsindu-se și în mioglobină, enzimele respiratorii (citocromi), peroxidaze, catalază. Această cromoproteină conține 0,338 g% fier (Drabkin). Hemoglobina are asemănare structurală cu mioglobina, deși este mai complicată decît aceasta. Structura hemoglobinei a fost descrisă de Perutz și colab. prin studii de difracție cu raze X la o rezoluție de 2,8 Å\*\*. S-a ajuns la concluzia că hemoglobina este alcătuită din patru lanțuri polipeptidice separate; două lanțuri  $\alpha$  și două lanțuri  $\beta$ . Principalele trăsături structurale deduse din cercetările menționate sînt următoarele:

- cele patru lanțuri sînt aranjate astfel încît formează o structură aproximativ sferică (fig. XIV.7);
- lanțurile individuale ocupă vîrfurile unui tetraedru regulat;

\* pg = picogram =  $10^{-12}$  g.

\*\* Datorită complexității sale, structura hemoglobinei a fost completată cîva timp după aceea a mioglobinei, deși cercetările au fost inițiate cu cîțiva ani mai înainte (Perutz și Kendrew, Premiul Nobel 1962).

Fig. XIV. 7 — Structura hemoglobinei  
după Perutz.



Molecula  $\alpha_1$   
de hemoglobină în eritrocit

— fiecare lanț are conformație foarte asemănătoare mioglobinei ;  
 ++ lanțurile sînt aranjate astfel încît interacțiunile dintre lanțurile asemănătoare sînt slabe și acelea dintre lanțurile diferite ( $\alpha$  sau  $\beta$ ) puternice ;  
 — deoxigenarea hemoglobinei provoacă o schimbare marcată în structură cu rezultatul net de apropierea celor două lanțuri  $\alpha$ -hem la distanța de 1 Å, cele două  $\beta$ -hem se depărtează la distanța 6,5 Å. Oxigenarea hemoglobinei provoacă modificarea conformațională de sens invers, cu apropierea celor două lanțuri  $\beta$ . Conformațiile lanțurilor individuale nu se schimbă în mod detectabil. Molecula de hemoglobină are greutatea moleculară de circa 64 500—67 000 daltoni. Fiecare dintre cele patru subunități peptidice componente corespund unei greutăți moleculare de circa 17 000. La modul general — ținînd seama de compoziția tetramerică a moleculei de hemoglobină (Hgb), formula sa poate fi exprimată astfel :  $X_2 Y_2$  în care  $X_2$  desemnează o pereche de lanțuri polipeptidice alfa ( $\alpha$ ), iar  $Y_2$  se referă la o pereche de lanțuri beta ( $\beta$ ), gama ( $\gamma$ ), delta ( $\delta$ ) sau epsilon ( $\epsilon$ ). Se realizează urmă-



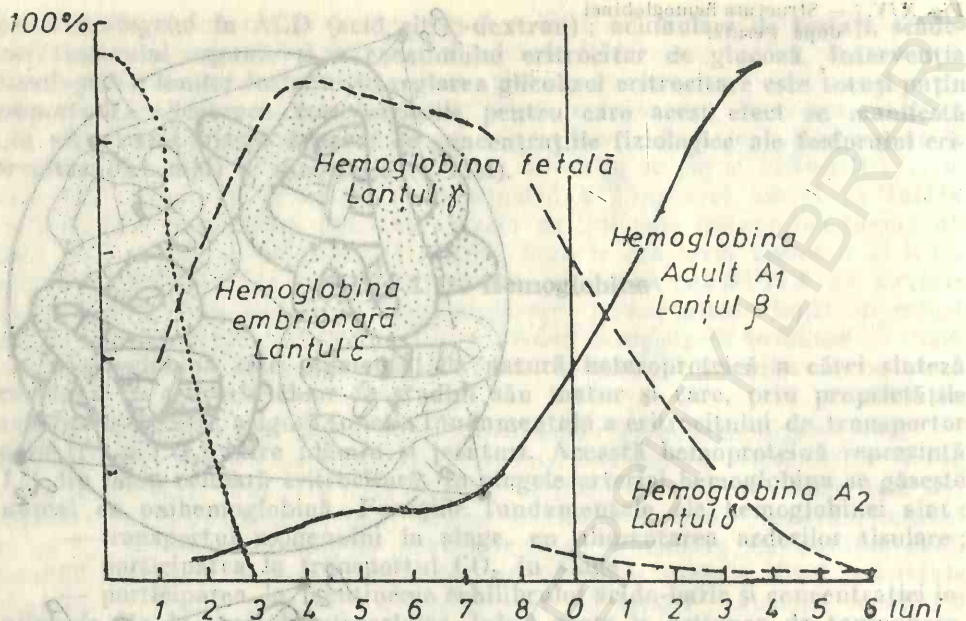


Fig. XIV.8 - Evoluția în timp a biosintezei lanțurilor  $\beta$  și non- $\beta$  din diferitele tipuri fiziologice de hemoglobină.

toarele tipuri normale: Hgb A (adult) =  $\alpha_2\beta_2$ ; Hgb A<sub>2</sub> =  $\alpha_2\beta_2$ ; Hgb F (fetală) =  $\alpha_2\gamma_2$ . Se mai studiază și o hemoglobină embrionară care are lanțuri  $\epsilon$ , încă insuficient cunoscute.

**Hemoglobinele fiziologice.** Eritrocitul adultului conține preponderent Hgb A = Hgb  $\alpha_2\beta_2$ , un procent de 2,5% Hgb A<sub>2</sub> = Hgb  $\alpha_2\delta_2$  și urme de Hgb F = Hgb  $\alpha_2\gamma_2$ . Hemoglobina fetală reprezintă 80% din cea totală la naștere și ajunge la 1% la un an, dispărând apoi treptat (fig. XIV.8). Se cunoaște și Hgb A<sub>3</sub>, formă de îmbătrânire a Hgb A, care apare la sfârșitul vieții hematiilor. Fiecare dintre formele de Hgb se caracterizează prin mobilitate electroforetică, punct izoelectric, viteză de denaturare în mediu alcalin sau acid. Cele mai multe date fizico-chimice cunoscute se referă la Hgb A. Hgb F este foarte rezistentă la alcalii, caracter pe care se bazează și determinarea ei cantitativă prin metodă chimică. Această formă are o afinitate mai crescută pentru O<sub>2</sub> decât hemoglobina Hgb A, explicată prin faptul că legătura între Hgb F și 2,3-DPG se face mai greu. Subunitățile Hgb sînt de dimensiuni similare dar nu identice. Forțele care le leagă nu determină legături covalente. De aceea disocierea subunităților Hgb se face ușor și nu implică un clivaj reductiv, așa cum este necesar pentru ruperea punților S-S (disulfurice) dintre lanțurile ușoare și grele ale imunoglobulinelor sau hepatoglobinelor. În ansamblu, molecula de globină din hemoglobină cuprinde 574 aminoacizi. Lanțurile  $\alpha$  conțin 141 resturi aminoacizi, iar lanțurile  $\beta$  146, cu secvența bine cunoscută (determinată în perioada 1962—1964). Cele patru lanțuri polipeptidice din molecula de hemoglobină sînt legate între ele prin punți de hidrogen sau forțe Van der Waals. Studiile de structură conformațională sau tridimensională, pe bază de spectre de difracție cu raze X (sinteze Fourier),

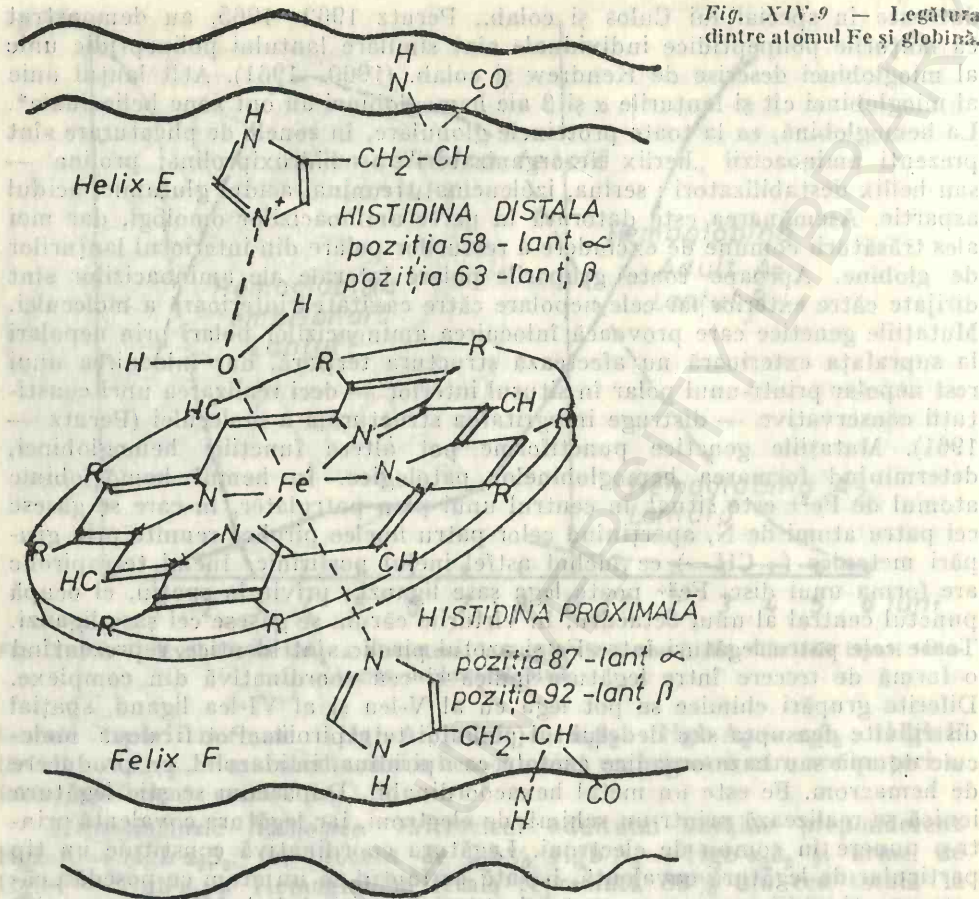
datorate în special lui Culos și colab., Perutz 1962—1965, au demonstrat că lanțurile polipeptidice individuale sînt similare lanțului polipeptidic unic al mioglobinei descrise de Kendrew și colab. (1960—1961). Atît lanțul unic al mioglobinei, cît și lanțurile  $\alpha$  și  $\beta$  ale hemoglobinei au opt zone helicoidale\*. La hemoglobină, ca la toate proteinele globulare, în zonele de plicaturare sînt prezenți aminoacizii „herlix dezorganizatori” — hidroxiprolina, prolina — sau helix destabilizatori: serina, izoleucina, treonina, acidul glutamic, acidul aspartic. Asemănarea este datorată în parte aminoacizilor omologi, dar mai ales trăsăturii comune de excludere a resturilor polare din interiorul lanțurilor de globine. Aproape toate grupările polare laterale ale aminoacizilor sînt dirijate către exterior iar cele nepolare către cavitatea interioară a moleculei. Mutațiile genetice care provoacă înlocuirea aminoacizilor polari prin nepolari la suprafața exterioară nu afectează structura terțiară, dar înlocuirea unui rest nepolar printr-unul polar în situsul interior — deci realizarea unei constituții conservative — distruge integritatea structurală a moleculei (Perutz — 1961). Mutațiile genetice punctiforme pot altera funcțiile hemoglobinei, determinînd formarea hemoglobinelor patologice. În hemul hemoglobinic atomul de  $Fe^{2+}$  este situat în centrul unui plan patrulater, în care se găsesc cei patru atomi de N, aparținînd celor patru nuclee pirolice reunite prin grupări metenice ( $-CH=$ ) ce închid astfel inelul porfirinic. Inelul tetrapirolic are forma unui disc.  $Fe^{2+}$  poate lega șase liganzi; privit în spațiu, el ocupă punctul central al unui octaedru, în vîrfurile cărui se găsesc cei șase liganzi. Toate cele patru legături între Fe și azotul pirolic sînt identice, reprezentînd o formă de trecere între legătura ionică și cea coordinativă din complexe. Diferite grupări chimice se pot lega cu al V-lea și al VI-lea ligand, spațial distribuite deasupra sau dedesubtul planului tetrapirolic. Pot fi două molecule de apă sau baze organice azotate ca: piridina, imidazolul, cu producere de hemacrom. Fe este un metal hexacoordinabil. După cum se știe legătura ionică se realizează printr-un schimb de electroni, iar legătura covalentă printr-o punere în comun de electroni. Legătura coordinativă constituie un tip particular de legătură covalentă, bazată pe faptul că un atom ce posedă „căsuțe cuantice” libere poate accepta electroni provenind de la alt atom sau altă moleculă. Electronii cedati de aceasta și acceptați în „căsuța cuantică” liberă a atomului primitor sînt grupați în dublete de electroni cu spin contrar. Numărul de legături pe care atomul este susceptibil să-l contracteze este exprimat în indicele de coordinație care în cazul fierului este egal cu 6. Ionul  $Fe^{2+}$  poate să găzduiască în căsuțele electronice, libere sau golite de electroni celibatari (nepereché), 6 dublete electronice.

În hemoglobina redusă patru legături coordinative ale  $Fe^{2+}$  se stabilesc cu azotul celor patru nuclee pirolice iar legăturile a V-a și a VI-a cu azotul din histidină, în două moduri: direct (a V-a) și indirect (a VI-a). Legătura directă se face cu un atom de azot dintr-un rest de histidină proximală, His 87 din lanțul alfa și His 92 din lanțul beta; cea indirectă se face prin intermediul unei molecule de apă, cu un rest histidină distală, His 58 pentru lanțul  $\alpha$  și His 63 pentru lanțul  $\beta$  (fig. XIV.9). În Hgb-oxygenată legătura VI se face cu  $O_2$ .

\* Zonele helicoidale se notează A, B, C, D, E, F, G, H și sînt despărțite prin 7 segmente nehelicoidale.



Fig. XIV.9 — Legătura  
dintre atomul Fe și globină.



**Biosinteza hemoglobinei.** Biosinteza hemoglobinei presupune elaborarea și unirea celor două componente: hemul și globina.

Biosinteza hemului se desfășoară după cum urmează:

În prima treaptă se formează acid  $\delta$ -amino-levulinic, produs prin ciclul succinat-glicocol-sub acțiunea  $\delta$ -aminolevulinatsintetazei. Două molecule de acid  $\delta$ -aminolevulinic se condensează prin acțiunea  $\delta$ -amino-levulinat-dehidrogenazei cu formarea de porfobilinogen. Urmează transformarea prin dezaminare a 4 molecule de porfobilinogen în porfirină.

Prin decarboxilare și oxidări succesive se produce protoporfirină. Fierul este introdus în moleculă sub acțiunea hemosintetazei, enzimă mitocondrială deținătoare de grupări SH. Sinteza hemului are loc în precursorii nucleați ai eritrocitului matur (fig. XIV.10).

Pentru sinteza hemului sînt necesari anumiți factori: acidul tetrahydrofolic, vitamina  $B_{12}$ , cupru. Sinteza lanțurilor peptidice ale componentei globinice se realizează în eritroblaștii din măduva osoasă și continuă în eritrocit. Sînt implicați doi cromozomi diferiți, unul pentru lanțul  $\alpha$  (141 aminoacizi), celălalt pentru lanțul  $\beta$  (146 aminoacizi). Informația genetică din ADN cro-

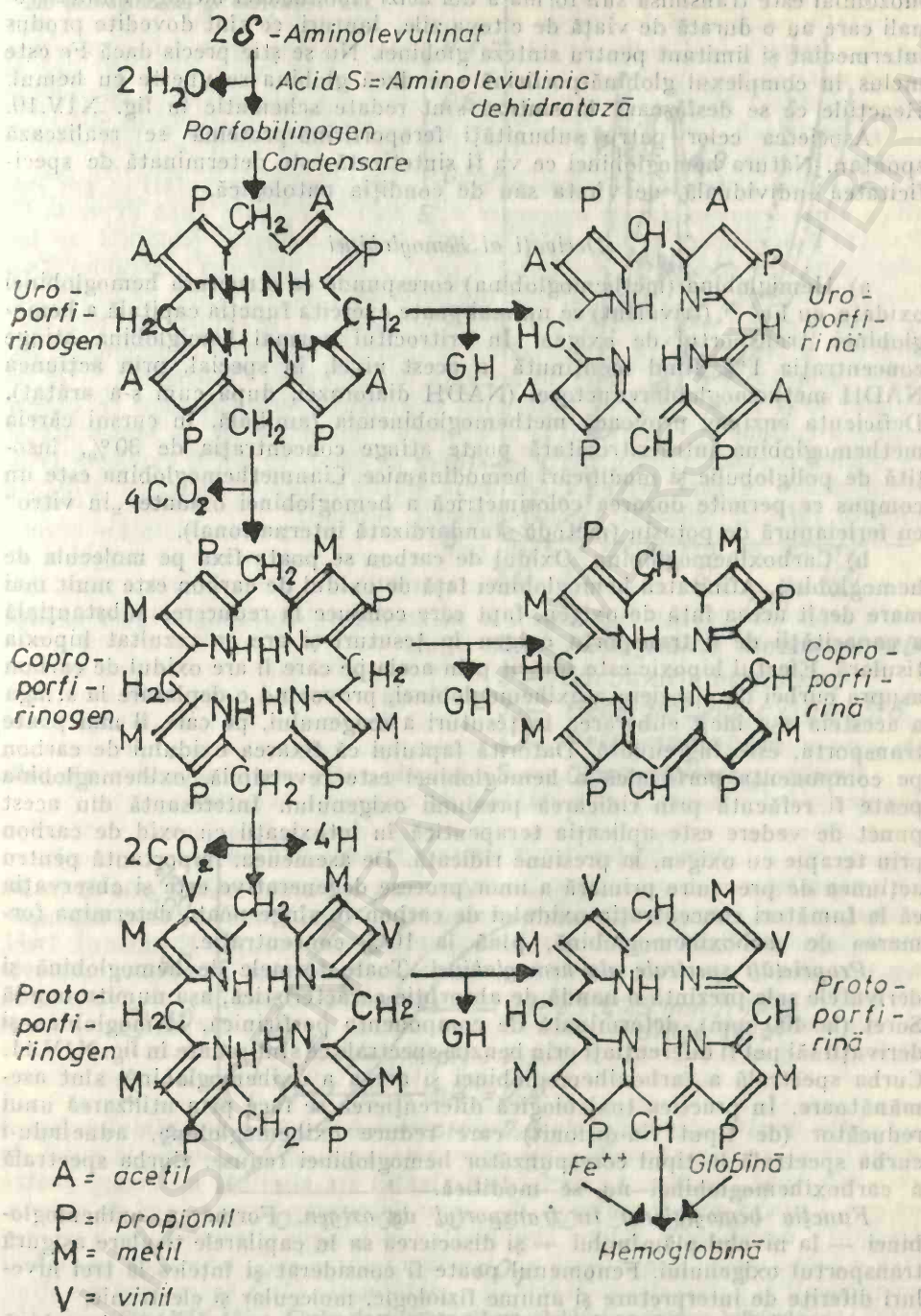


Fig. XIV.10 — Biosinteza hemului și formarea hemoglobinei.



mozomial este transmisă sub forma a doi acizi ribonucleici mesageri unicistronali care au o durată de viață de câteva zile, lanțuri ce sînt dovedite produs intermediar și limitant pentru sinteza globinei. Nu se știe precis dacă Fe este inclus în complexul globină-porfirină sau dacă globina se unește cu hemul. Reacțiile ce se desfășoară în sinteză sînt redată schematic în fig. XIV.10.

Asocierea celor patru subunități feroporfirină-proteină se realizează spontan. Natura hemoglobinei ce va fi sintetizată este determinată de specificitatea individuală, de vîrstă sau de condiția patologică.

### *Derivați ai hemoglobinei*

a) Hemiglobina (methemoglobina) corespunde ca structură hemoglobinei oxidate, cu  $\text{Fe}^{+++}$  (trivalent) ce nu mai poate exercita funcția capitală a hemoglobinei, transportul de oxigen. În eritrocitul normal hemiglobina atinge concentrația 1%, fiind menținută la acest nivel, în special, prin acțiunea NADH methemoglobinreductazei (NADH diaforazei, după cum s-a arătat). Deficiența enzimei provoacă methemoglobinemia familială, în cursul căreia methemoglobina intraeritocitară poate atinge concentrația de 30%, însoțită de poliglobulie și modificări hemodinamice. Cianmethemoglobina este un compus ce permite dozarea colorimetrică a hemoglobinei oxidate „in vitro” cu fericianură de potasiu (metodă standardizată internațional).

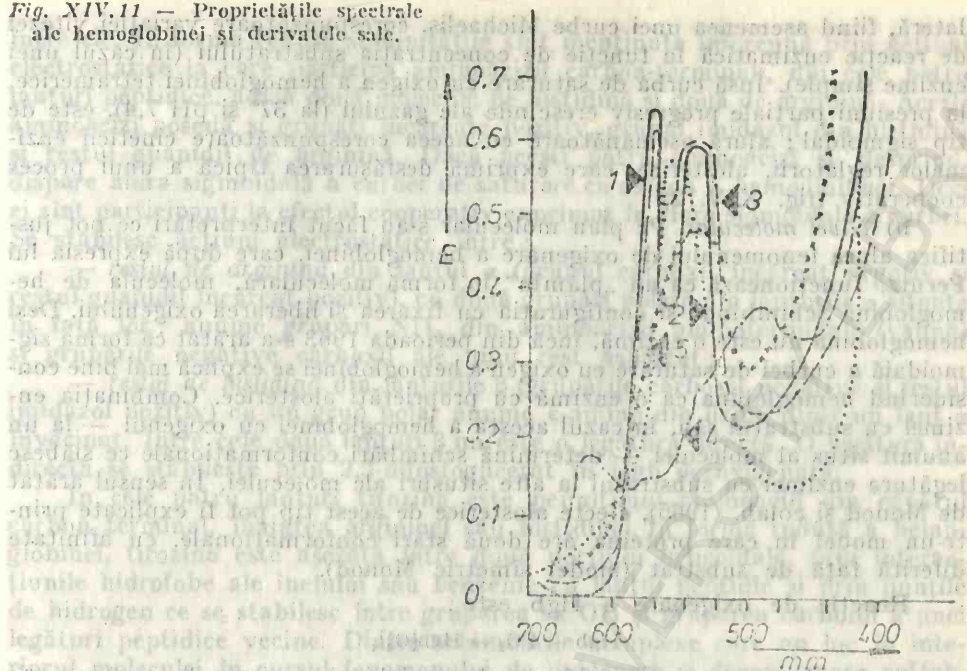
b) Carboxihemoglobina. Oxidul de carbon se poate fixa pe molecula de hemoglobină. Afinitatea hemoglobinei față de oxidul de carbon este mult mai mare decît aceea față de oxigen, fapt care conduce la reducerea substanțială a capacității de a transporta oxigen în țesuturi și are ca rezultat hipoxia tisulară. Efectul hipoxie este întărit prin acela pe care îl are oxidul de carbon asupra curbei de disociere a oxihemoglobinei, provocînd o deplasare la stînga a acesteia așa încît eliberarea în țesuturi a oxigenului, pe care îl mai poate transporta, este îngreunată. Datorită faptului că fixarea oxidului de carbon pe componenta porfirinică a hemoglobinei este reversibilă, oxihemoglobina poate fi refăcută prin ridicarea presiunii oxigenului. Interesantă din acest punct de vedere este aplicația terapeutică în intoxicații cu oxid de carbon prin terapie cu oxigen, la presiune ridicată. De asemenea, importantă pentru acțiunea de prevenire primară a unor procese degenerative este și observația că la fumători concentrația oxidului de carbon în sînge poate determina formarea de carboxihemoglobină, pînă la 10% concentrație.

*Proprietăți spectrale ale hemoglobinei.* Toate formele de hemoglobină și derivatele sale prezintă o bandă de absorbție caracteristică, așa numita bandă Soret (la 400 nm), determinată de componenta porfirinică. Hemoglobina și derivații săi pot fi diferențiați prin benzile spectrale ce sînt redată în fig. XIV.11. Curba spectrală a carboxihemoglobinei și aceea a oxihemoglobinei sînt asemănătoare. În practica toxicologică diferențierea se face prin utilizarea unui reducător (de tipul Na-ditionit) care reduce oxihemoglobina, aducîndu-i curba spectrală la tipul corespunzător hemoglobinei reduse. Curba spectrală a carboxihemoglobinei nu se modifică.

*Funcția hemoglobinei în transportul de oxigen.* Formarea oxihemoglobinei — la nivelul plămînului — și disocierea sa în capilarele tisulare asigură transportul oxigenului. Fenomenul poate fi considerat și înțeles la trei niveluri diferite de interpretare și anume fiziologic, molecular și electronic.

a) *Nivel fiziologic.* Curba care exprimă fixarea oxigenului la mioglobină sau la un lanț izolat de hemoglobină se prezintă ca un arc de hiperbolă echi-

Fig. XIV.11 — Proprietățile spectrale ale hemoglobinei și derivatele sale.



1 — Hemoglobina dezoxigenată  
2 — Carboxihemoglobina  
3 — Hemoglobina oxigenată  
4 — Methemoglobina  
5 — Cianmethemoglobina

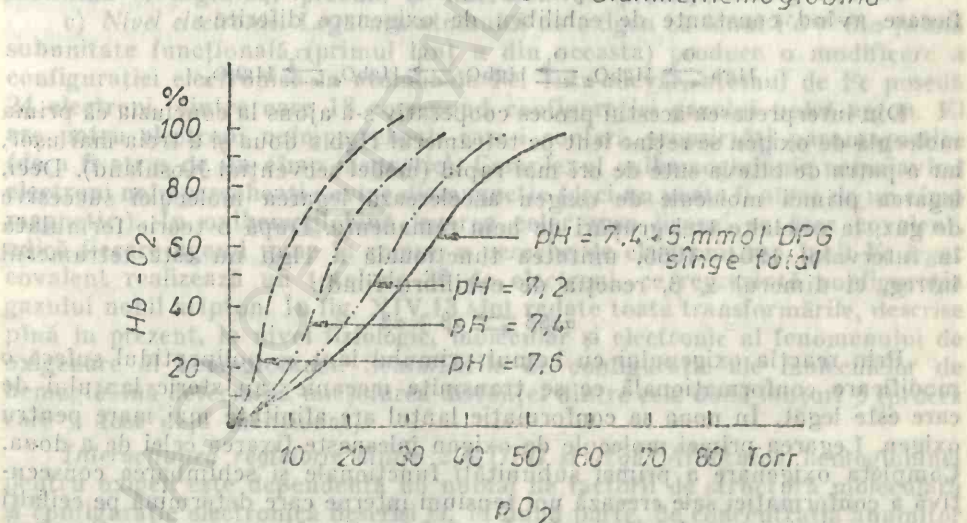


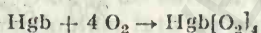
Fig. XIV.12 — Curba de saturare a hemoglobinei cu oxigen. Influența concentrației de H<sup>+</sup> (pH) și a 2,3-DPG.



lateră, fiind asemenea unei curbe Michaelis, corespunzătoare variației vitezei de reacție enzimatică în funcție de concentrația substratului (în cazul unei enzime simple). Însă curba de saturare cu oxigen a hemoglobinei tetramerică, la presiuni parțiale progresiv crescînde ale gazului (la 37° și pH 7,4), este de tip sigmoidal; alură asemănătoare cu aceea corespunzătoare cineticii enzimelor reglatorii, alosterice, care exprimă desfășurarea tipică a unui proces cooperativ (fig. XIV.12).

b) *Nivel molecular*. Pe plan molecular s-au făcut interpretări ce pot justifica alura fenomenului de oxigenare a hemoglobinei, care după expresia lui Perutz, funcționează ca un „plămîn” în formă moleculară, molecula de hemoglobină schimbîndu-și configurația cu fixarea și liberarea oxigenului. Deși hemoglobina nu este o enzimă, încă din perioada 1963 s-a arătat că forma sigmoidală a curbei de saturare cu oxigen a hemoglobinei se explică mai bine considerînd hemoglobina ca o enzimă cu proprietăți alosterice. Combinația enzimei cu substratul său, în cazul acesta a hemoglobinei cu oxigenul — la un anumit situs al moleculei — determină schimbări conformaționale ce slăbesc legătura enzimei cu substratul la alte situsuri ale moleculei. În sensul arătat de Monod și colab. (1965), efecte alosterice de acest tip pot fi explicate printr-un model în care proteina are două stări conformaționale, cu afinitate diferită față de substrat (model simetric Monod).

Reacție de oxigenare a Hgb este :

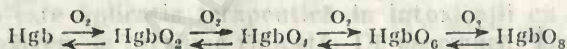


Curba de saturare cu oxigen a hemoglobinei corespunde unei ecuații mai generale a acestui tip, ecuația Hill :

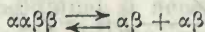
$$\frac{\text{HbO}_2}{\text{Hb}} = K(\text{pO}_2)^n$$

în care  $n$  este diferit de 1.

Reacția globală poate fi privită în cele patru etape succesive ale sale, fiecare avînd constante de echilibru de oxigenare diferite :



Din interpretarea acestui proces cooperativ s-a ajuns la concluzia că prima moleculă de oxigen se reține lent pe tetramerul Hgb a doua și a treia mai ușor, iar a patra de cîteva sute de ori mai rapid (model secvențial Koshland). Deci, legarea primei molecule de oxigen accelerează legarea moleculei succesive de gaz, la celelalte trei grupări de hem remanente. După o teorie formulată în intervalul 1964—1966, unitatea funcțională a Hgb nu este tetramerul întreg, ci dimerul  $\alpha$ ,  $\beta$ , reacția de echilibru fiind :



Prin reacția oxigenului cu hemul primului lanț  $\alpha$ , polipeptidul suferă o modificare conformațională ce se transmite mecanic sau steric lanțului de care este legat. În noua sa conformație lanțul are afinitate mai mare pentru oxigen. Legarea primei molecule de oxigen înlesnește fixarea celei de a doua. Completa oxigenare a primei subunități funcționale și schimbarea consecutivă a conformației sale creează noi tensiuni interne care determină pe ceilalți componenți ai sistemului să-și schimbe conformația către aceea care are afinitatea mai mare pentru oxigen. În forma oxigenată subunitățile moleculei se pot mișca liber, independent una de alta. Lanțurile  $\beta$  sînt mai apropiate

între ele. În forma redusă subunitățile sînt menținute împreună prin acțiuni electrostatice la care participă aminoacizii carbon-terminali, din cele patru lanțuri peptidice, adică două molecule de histidină și două de arginină. Acești aminoacizi posedă și grupări încărcate pozitiv, grupul imidazol din histidină și restul guanidil de arginină. Dacă acești patru aminoacizi se desprind, dispăre alura sigmoidală a curbei de saturare cu oxigen a hemoglobinei. Deci ei sînt participanți la efectul cooperativ exprimat în alura sigmoidală a curbei. Se stabilesc acțiuni electrostatice între:

— *restul de arginină* din lanțul  $\alpha$  (grupul carboxil încărcat negativ și restul guanidil încărcat pozitiv), cu două grupări polare din lanțurile  $\alpha$  situate în fața lor; anume grupări  $\text{NH}_2$  din aminoacizii aminoterminali (valina) și grupările negative carboxil ale unui rest aspartat;

— *restul de histidină* din lanțurile  $\beta$  (grupările carboxil negative și restul imidazol pozitiv) cu un grup polar anume  $\epsilon$ -amino din lizină dintr-un lanț  $\alpha$  învecinat. Între cele două lanțuri  $\beta$  nu este o legătură directă. O legătură indirectă se stabilește prin 2,3-difosfoglicerat în Hgb deoxigenată.

În cele patru lanțuri tirozina este penultimul aminoacid din capătul carbon terminal, înaintea argininei sau histidinei. În forma redusă a hemoglobinei, tirozina este așezată între două porțiuni helicoidale, prin interacțiunile hidrofobe ale inelului său benzenic cu lanțul peptidic și prin punțile de hidrogen ce se stabilesc între gruparea sa  $\text{OH}$  și gruparea carbonil a unei legături peptidice vecine. Dintre schimbările complexe care au loc în interiorul moleculei în cursul fenomenului de oxigenare și deoxigenare a Hgb, unele sînt de o deosebită importanță pentru realizarea efectului final. Dintre acestea poate fi reținută mișcarea atomului de Fe în planul inelului porfirinic care determină o mișcare a componentei globinice. Ca urmare se îngustează spațiul în care este fixată tirozina și astfel este împinsă în afară. Se produce ruptura legăturilor electrostatice cu aminoacizii carbon terminali, histidina și arginina, precum și liberarea de protoni.

c) *Nivel electronic.* Legătura atomului de oxigen cu ionul  $\text{Fe}^{++}$  din prima subunitate funcțională (primul lanț  $\alpha$  din aceasta) produce o modificare a configurației electronice în atomul de Fe. Într-adevăr, atomul de Fe posedă 24 electroni, dintre care 18 corespund configurației gazului nobil argon. El are patru electroni neîmperecheați care-i conferă proprietăți paramagnetice (de a fi atras de un cîmp magnetic). Complexul oxihemoglobinic nemaiavînd electroni neîmperecheați devine diamagnetic (deci nu poate fi atras de un cîmp magnetic). În oxihemoglobină legarea celor șase liganzi se face covalent, adică fiecare ligand pune în comun o pereche de electroni, așa încît Fe legat covalent realizează un total de 36 de electroni, ce reprezintă configurația gazului nobil kripton. În fig. XIV.13 sînt redate toate transformările, descrise pînă în prezent, la nivel fiziologic, molecular și electronic al fenomenului de oxigenare al hemoglobinei. Schimbările de configurație ale moleculelor de hemoglobină determină micșorarea distanței dintre cele două lanțuri  $\beta$  (proces care a fost deja menționat).

*Interacțiunea reglatorie dintre 2,3-DPG și Hgb.* Afinitatea hemoglobinei pentru oxigen este dependentă nu numai de factorii de structură moleculară și configurație electronică descriși ei, în bună parte, de concentrația anumitor compuși organici fosforici ca ATP și în special 2,3-DPG. În eritrocitele umane acest ultim compus are aceeași concentrație moleculară ca Hgb, reprezentînd de cca 4 ori concentrația moleculară a ATP. Așa cum s-a menționat deja,



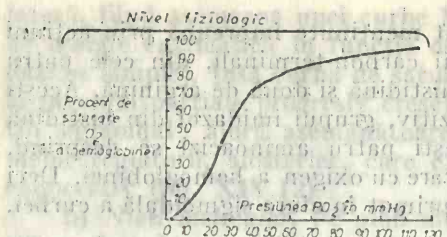


Fig. XIV.13 - Nivel fiziologic: a) Nivel fiziologic: curba de saturație cu  $O_2$  a hemoglobinei. b) Nivel molecular: schimbările conformaționale, ruperea legăturilor electrostatice cu aminoacizii C terminali, deplasarea tirozinei, liberarea de protoni, apropierea lanțurilor. c) Nivel electronic: Schimbarea configurației electronice a  $Fe^{2+}$  cu pierderea proprietăților paramagnetice.

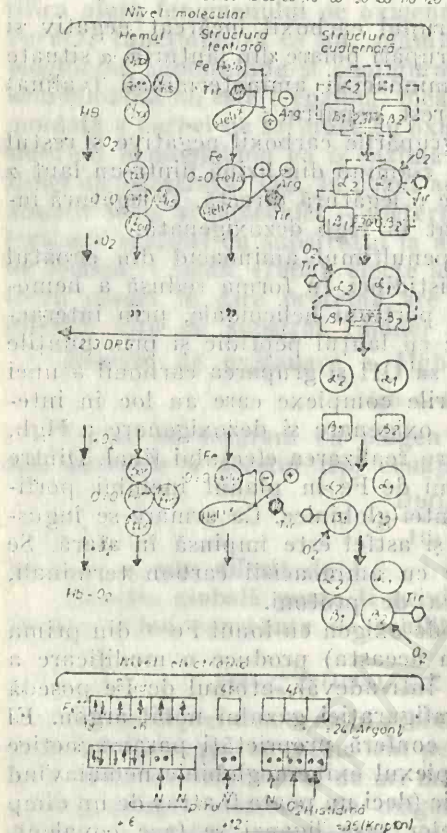


Fig. XIV.14 - Inducția prin hipoxie a creșterii 2,3-DGP eritrocitar. a) Nivel molecular: schimbările conformaționale, ruperea legăturilor electrostatice cu aminoacizii C terminali, deplasarea tirozinei, liberarea de protoni, apropierea lanțurilor. b) Nivel electronic: Schimbarea configurației electronice a  $Fe^{2+}$  cu pierderea proprietăților paramagnetice.

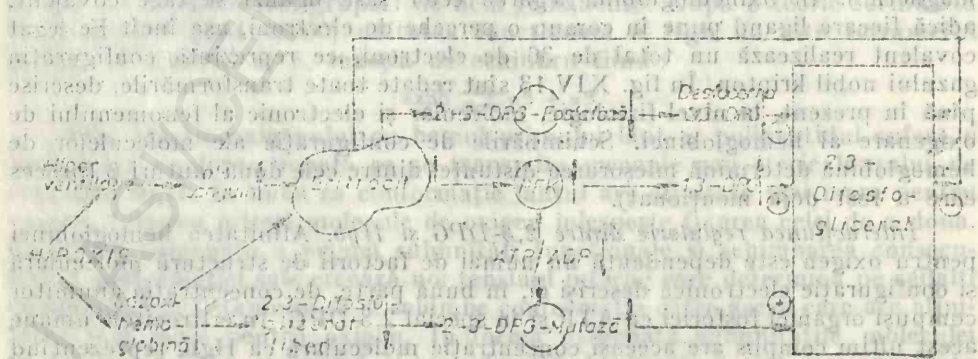
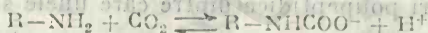


Fig. XIV.15 - Nivel fiziologic: curba de saturație cu  $O_2$  a hemoglobinei.

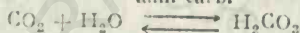
prin fixarea de 2,3-DPG pe molecula de Hgb scade afinitatea acesteia pentru oxigen. Această acțiune constituie un mecanism prin care eritrocitul își reglează activitatea și funcția de transport a oxigenului, asigurând alimentarea țesuturilor cu acest gaz, în condiții exterioare defavorabile ca, de exemplu, altitudinea ridicată sau scăderea numărului de eritrocite circulante. În hipoxie pH-ul eritrocitar joacă un rol important în reglarea nivelului de 2,3-DPG. Lipsa de oxigen duce la hiperventilație cu eliminare crescută de  $\text{CO}_2$ , ceea ce are drept urmare starea de alcaloză, cu creșterea pH-ului intraeritocitar. Concomitent se produce scăderea concentrației DPG liber, prin legarea acestuia cu deoxihemoglobina. Alcalinizarea intraeritocitară duce la o creștere a ratei glicolitice preponderent prin acțiunea fosfofructokinazei (PFK), care conduce la ridicarea concentrației de 2,3-DPG. Deoarece 2,3-DPG-fosfataza este inhibată prin creșterea pH-ului, această modificare constituie încă un factor de creștere a rezervei de 2,3-DPG în hipoxie (Fig. XIV.14). Creșterea concentrației de 2,3-DPG, ce nu trece prin membrana eritocitară, ca și scăderea pH-ului intracelular determină schimbări ionice prin echilibrul de membrană. Dominanța aib

Rata de sinteză a 2,3-DPG revine la normal. Variațiile de pH eritocitar influențează totodată și afinitatea pentru oxigen a hemoglobinei (efectul Bohr). Creșterea pH-ului intraeritocitar deplasează curba de saturare la stînga. Creșterea concomitentă a concentrației 2,3-DPG determină însă o deplasare a curbei de saturare spre dreapta.

**Funcția hemoglobinei în transportul de  $\text{CO}_2$ .** Hemoglobina poate transporta  $\text{CO}_2$ , datorită legăturii chimice a gazului cu unii aminoacizi (foarte probabil cu resturile amino ale valinei terminale). Aproximativ 20% din  $\text{CO}_2$  transportat de sânge este legat sub formă de compus carbaminic. Reacția are loc neenzimatic, conform ecuației:



Cea mai mare parte a dioxidului de carbon difuzat în eritrocite este transformat ireversibil sub acțiunea anhidrazei carbonice:



Acidul carbonic produs se disociază în ion bicarbonic și protoni. Protonii eliberați sînt luați de hemoglobină, iar ionii bicarbonici difuzează în plasmă. Bicarbonații reprezintă forma principală de transport (70%) a  $\text{CO}_2$  din țesuturi către plămîn. Funcția hemoglobinei în sistemul tampon de reglare a echilibrului acido-bazic al sîngelui este prezentată în capitolul XIII.

**Hemoglobine patologice.** Acestea sînt cunoscute sub forma a mai mult de 150 variante, cu abateri ale structurii primare a hemoglobinei, frecvența anomaliilor fiind de circa 1/600. Mecanismul de producere a lor este complex:

Prin substituirea unuiu sau mai multor resturi de aminoacizi din anumite poziții. În aceste cazuri schimbarea trebuie să fie neconservativă, adică un acid polar să fie substituit printr-unul apolar și reciproc, cum este cazul înlocuirii acidului glutamic (hidrofil) cu valina (hidrofobă) din lanțul  $\beta$ -al hemoglobinei. Condiția este necesară dar nu și suficientă. Este hotărîtoare localizarea aminoacidului la suprafață sau în interiorul moleculei de hemoglobină. Anomaliile se produc numai prin substituirea neconservativă a aminoacizilor din interiorul moleculei, unde se află scheletul porfirinic al hemului



și unde se face legătura cu oxigenul. Schimbarea aminoacizilor polari prin aminoacizi nepolari, la suprafața externă a moleculei, nu afectează structura terțiară și proprietățile hemoglobinei. Acest mecanism acționează ca urmare a „mutației punctiforme“.

— Prin deleție sau lipsa unuia sau mai multor aminoacizi, ca urmare a unui „crossing-over“ inegal în cursul meiozei. Anomaliile hemoglobinei se moștenesc autosomal, recesiv. La heterozigoții care posedă hemoglobină normală și patologică în părți egale, pigmentul normal este suficient pentru alimentarea țesuturilor cu oxigen. Homozigoții prezintă însă anemii ale căror consecințe sînt severe, provocînd adesea moartea. Desemnarea anomaliilor se face fie prin litere mari ale alfabetului, fie prin denumirea clinicii, locului sau numele pacientului unde sau la care s-a făcut pentru prima oară descrierea anomaliiei. Pentru exprimarea exactă și în formă concisă a anomaliilor lanțului peptidic, se indică poziția și natura schimbării ca în exemplul — cel mai bine cunoscut — din anemia „sickle-cell“ (cu eritrocite în formă de seceră):  $\alpha_2\beta_2$ -6-gluval.

Formula arată că în poziția 6 a lanțului  $\beta$  din molecula de Hgb  $\alpha_2\beta_2$  restul aminoacidic glutamil este înlocuit cu valil. Anomaliile structurale ale moleculei de hemoglobină patologică se reflectă în modificarea proprietăților fizico-chimice ale formei moleculare ce stau la baza metodologiei de depistare și caracterizare a hemoglobinelor patologice. Modificările privesc sarcina electronică, solubilitatea, stabilitatea moleculei, afinitatea pentru oxigen, spectrul de absorbție. Metodele se aplică pe eritrocite sau soluții de hemoglobină obținută prin citoliză.

Hemoglobinopatiile se împart în două categorii: a) calitative în care anomalia genetică determină structura chimică anormală a moleculei de hemoglobină și b) cantitative în care anomalia privește doar rata de sinteză a unuia sau mai multor lanțuri polipeptidice dintre care unele sînt prezente în structura normală.

a) Anomalii calitative. În această grupă sînt incluse cîteva tipuri de anomalii genetice ale secvenței aminoacizilor din hemoglobină, selectate dintre cele 150 variante cunoscute și redată după cum urmează:

Denumirea anomaliiei	Poziția substituției	Substituția
Iwate	$\alpha$ -87	His-Tir
Boston	$\alpha$ -58	His-Tir
Hyde-Park	$\beta$ -92	His-Tir
Saskatoon	$\beta$ -63	His-Tir
Milwaukee	$\beta$ -67	Val-Glu

Toate aceste variante sînt asociate cu methemoglobinemie.

În fig. XIV-15 sînt subliniate pozițiile din lanțul  $\beta$  în care substituțiile neconservative aminoacidice determină alterări ale funcției hemoglobinei. Sînt semnalate anemia falciformă sau drepanocitoza cu hematii în formă de seceră cu hemoglobina S, rară în Europa, răspîndind însă în Africa, America de Sud și Centrală, la populațiile de culoare. Este caracterizată prin sînge sărac în oxigen, eritrocite în formă de seceră, predispoziție la hemoliză. După cum s-a mai menționat, baza moleculară a bolii este schimbarea restului glutamil prin valil, în poziția a VI-a din lanțul  $\beta$ . Schimbările pot fi puse

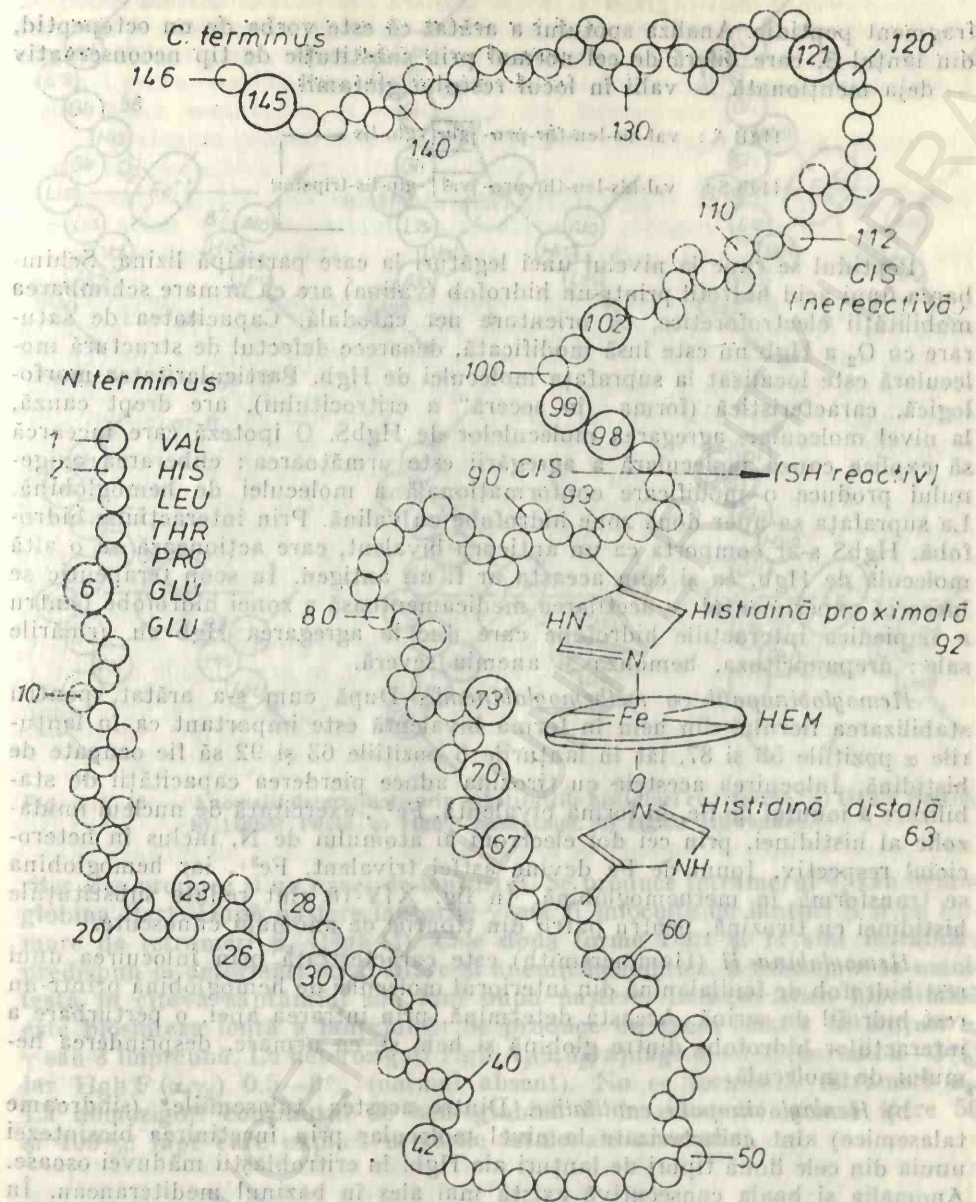
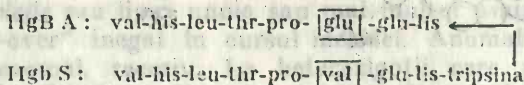


Fig. XIV. 15 — Schema structurală a unui lanț  $\beta$  în care substituirile neconservative ale aminoacizilor determină anomalii ale hemoglobinei (adaptat după H. Giblett).

în evidență prin metode electroforetice, electrocromatografice, cu ajutorul așa-numitei metode a amprentelor (Finger-Printing) a lui Ingram. Hemoglobina este hidrolizată prin tratare cu tripsină. Prin comparația frontului de migrare a peptidelor triptice de la normal și de la purtătorii de anomalii hemoglobinice — se observă schimbarea vitezei de migrare a unui anumit



fragment peptidic. Analiza spotului a arătat că este vorba de un octopeptid, din lanțul  $\beta$ , care diferă de cel normal prin substituție de tip neconservativ — deja menționată — valil în locul restului glutamil :



Peptidul se rupe la nivelul unei legături la care participă lizina. Schimbarea unui acid hidrofil printr-un hidrofob (valina) are ca urmare schimbarea mobilității electroforetice, cu orientare net catodală. Capacitatea de saturare cu  $O_2$  a Hgb nu este însă modificată, deoarece defectul de structură moleculară este localizat la suprafața moleculei de Hgb. Particularitatea morfologică, caracteristică (forma „în seceră” a eritrocitului), are drept cauză, la nivel molecular, agregarea moleculelor de HgbS. O ipoteză care încearcă să explice cauza moleculară a agregării este următoarea : eliberarea oxigenului produce o modificare conformațională a moleculei de hemoglobină. La suprafața sa apar două zone hidrofobe cu valină. Prin interacțiune hidrofobă, HgbS s-ar comporta ca un anticorp bivalent, care acționează cu o altă moleculă de Hgb, ca și cum aceasta ar fi un antigen. În scop terapeutic se încearcă experimental — acetilarea medicamentoasă a zonei hidrofobe pentru a împiedica interacțiile hidrofobe care duc la agregarea Hgb cu urmările sale : drepanocitoza, hemoliza și anemia severă.

*Hemoglobinopatii cu methemoglobinemie.* După cum s-a arătat, pentru stabilizarea fierului din hem în forma bivalentă este important ca în lanțurile  $\alpha$  pozițiile 58 și 87, iar în lanțurile  $\beta$  pozițiile 63 și 92 să fie ocupate de histidină. Înlocuirea acesteia cu tirozina aduce pierderea capacității de stabilizare a ionului de Fe, în forma bivalentă,  $Fe^{2+}$ , exercitată de nucleul imidazolic al histidinei, prin cei doi electroni ai atomului de N, inclus în heterociclul respectiv. Ionul de Fe devine astfel trivalent,  $Fe^{3+}$ , iar hemoglobina se transformă în methemoglobină. În fig. XIV-16 sint redată substituțiile histidinei cu tirozină, pentru patru din tipurile de anomalii cunoscute.

*Hemoglobina H* (Hammersmith) este caracterizată prin înlocuirea unui rest hidrofob de fenilalanină din interiorul moleculei de hemoglobină printr-un rest hidrofil de serină. Aceasta determină, prin intrarea apei, o perturbare a interacțiilor hidrofobe dintre globină și hem și, ca urmare, desprinderea hemului de moleculă.

b) *Hemoglobinopatii cantitative.* Dintre acestea, talasemiile\* (sindroame talasemice) sint caracterizate la nivel molecular prin încetinirea biosintezei unuia din cele două tipuri de lanțuri ale Hgb; în eritroblastii măduvei osoase. Anomalia și boala consecutivă există mai ales în bazinul mediteranean. În forma homozigotă — talasemia major (anemia Cooley), cu celule în „țintă” — anomalia duce la moarte în copilărie, datorită incapacității de oxigenare a țesuturilor. În forma heterozigotă — talasemia minor — anomalia este compatibilă cu viața. În talasemie este încetinită biosinteza lanțului  $\alpha$  cu restrângerea producerii celor trei forme de hemoglobine normale prezente în eritrocit (hemoglobina A,  $A_2$  și F). La embrion odată cu încetinirea biosintezei lanțu-

\*Denumirea derivă din cuvântul grecesc thalasso = mare.

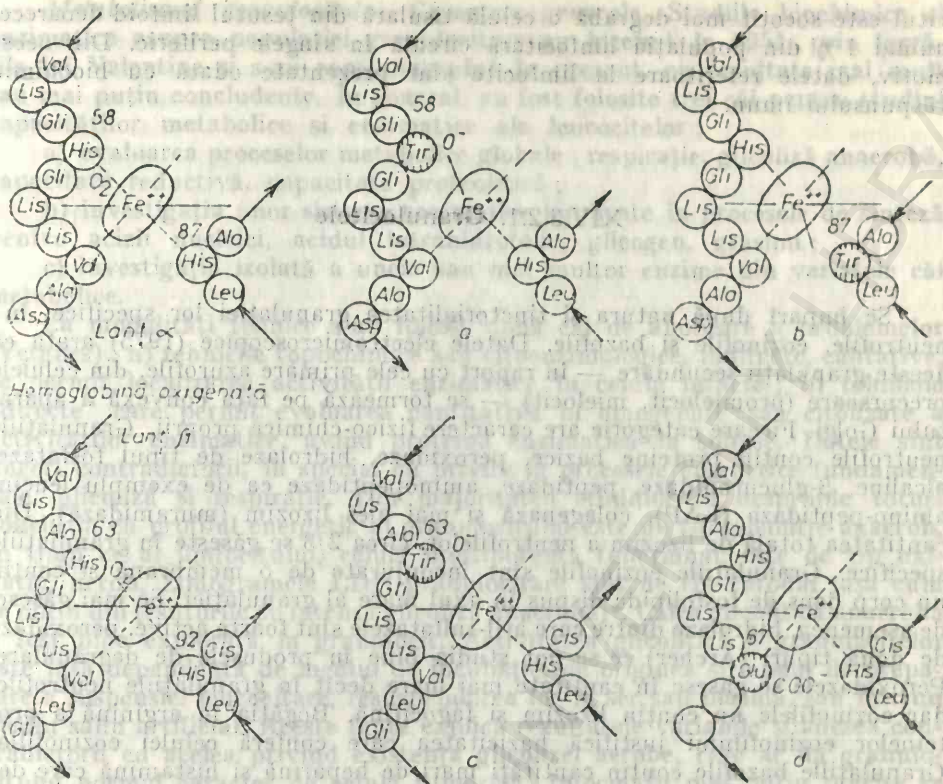


Fig. XIV. 16 — Anomalii determinate prin substituțiile histidinei cu tirozina : a) HgbM Boston, b) HgbM Iwate, c) HgbM Saskatoon, d) HgbM Milwaukee.

rilor  $\alpha$  se produce și un exces de lanțuri  $\beta$ . Se produce tetramerul  $\gamma_4$  sau hemoglobina Bart. După naștere lanțurile  $\gamma$  pot fi înlocuite cu lanțuri  $\beta$  și cu formarea de tetrameri  $\beta_4$  (Hgb H). Cele două forme Bart și H sint instabile; predispun la deformări eritrocitare și anemii hemolitice.  $\beta$  talasemia se manifestă în câteva săptămâni sau luni după naștere. Caracteristica biochimică este biosinteza lentă a lanțului  $\beta$ . Se produce un exces relativ în lanțuri  $\alpha$ ,  $\gamma$  sau  $\delta$  împreună. La heterozigoți Hgb  $A_2(\alpha_2\delta_2)$  ajunge 4—6% (normal 2—3%) iar Hgb F ( $\alpha_2\gamma_2$ ) 0,5—6% (normal absent). Nu se formează tetrameri  $\alpha_4$ . La homozigoți conținutul de hemoglobină F în eritrocit variază între 50 și 100%, fapt care explică urmările letale ale anomaliilor.

#### XIV.3.2. LEUCOCITELE

Împreună cu precursorii lor din măduva osoasă, leucocitele alcătuiesc seria mielocitară. Populația leucocitară din singele periferic este alcătuită din granulocite neutrofile, eozinofile, bazofile, limfocite și monocite. Limfo-



citul este socotit mai degrabă o celulă tisulară din țesutul limfoid deoarece, numai 1% din populația limfocitară circulă în singele periferic. Din acest motiv, datele referitoare la limfocite sînt prezentate odată cu biochimia răspunsului imun.

#### XIV.3.2.1. Granulocitele

Se împart după natura și tinctorialitatea granulației lor specifice, în: neutrofile, eozinofile și bazofile. Datele electromicroscopice (1975) arată că aceste granulații secundare — în raport cu cele primare azurofile, din celulele precursorare (promielocit, mielocit) — se formează pe fața convexă a aparatului Golgi. Fiecare categorie are caractere fizico-chimice proprii. Granulațiile neutrofile conțin proteine bazice, peroxidaze, hidrolaze de tipul fosfatazei alcaline,  $\beta$ -glucuronidaze, peptidaze, aminopeptidaze ca de exemplu leucin-amino-peptidaza (LAP), collagenază și mai ales lizozim (muramidază). Din cantitatea totală de lizozim a neutrofilelor, circa  $2/3$  se găsește în granulațiile specifice. Granulațiile eozinofile sînt înconjurate de o membrană și conțin un corp dens de fosfolipide dispus în axul mare al granulației. Se mai găsește, de asemenea, hidrolaze dintre care aril-sulfatazele sînt foarte active, peroxidaze de două tipuri (Archer) ce se pot studia bine în produsele de degranulare. Peroxidazele se găsește în cantitate mai mare decît în granulațiile neutrofile, dar eozinofilele nu conțin lizozim și fagocitină. Bogăția în arginină a proteinelor eozinofilului justifică bazicitatea care conferă celulei eozinofilia. Granulațiile bazofile conțin cantități mari de heparină și histamină care determină marea afinitate pentru coloranții bazici.

Granulocitele neutrofile, denumite și polimorfonucleare, joacă rolul cheie în procesul de apărare împotriva bacteriilor pe care le distrug prin fagocitoză și bactericidie.

**Reglarea granulopoiezei.** Numărul leucocitelor fiziologice circulante este foarte mic în raport cu acela al granulocitelor medulare (de circa 24 de ori mai mare). Granulocitele din singele periferic sînt în număr de  $0,7 \times 10^9$  celule pe kg corp, repartizate în două sectoare de mărime inegală: circulator și marginale, adică aderente de peretele venelor, înainte de a trece în țesuturi. În reglarea granulopoiezei medulare intervin cîțiva factori a căror natură chimică este necunoscută sau parțial înțeleasă, pentru unii dintre ei. Astfel, se menționează existența unui factor „inductor al leucocitozei“ a cărui natură nu este precizată, care acționează asupra vaselor și sinusoidelor medulare, favorizînd trecerea în circulația periferică a unor neutrofile, încă nematurate. În singe s-a pus în evidență (1973) existența a doi factori antagoniști: chalcona, polipeptid cu greutate moleculară de 5 000 daltoni, inhibitor al proliferării granulocitare și antichalcona cu greutate moleculară de 30 000 daltoni, stimulator al leucocitului. La nivelul celulelor de origine granulopoietică acționează, ca factor stimulator, granulopoietina. În culturi de celule pe agar este semnalat un factor stimulator al coloniilor celulare (FSC). Acesta este o glicoproteină cu greutate moleculară 45 000—100 000 secretată — se pare — de monocite și macrofage.

**Metabolismul granulocitului.** Caractere generale. Studiile biochimice și enzimatică asupra populației granulocitare au început în 1951, prin lucrările lui Valentine și s-au continuat până în prezent, cu rezultate mai mult sau mai puțin concludente. În general, au fost folosite trei căi pentru studiul capacităților metabolice și enzimatică ale leucocitelor:

a) evaluarea proceselor metabolice globale: respirație, glicoliză anaerobă, capacitate reductivă, capacitate proteolitică;

b) investigația unor sisteme enzimatică implicate în procesele de sinteză pentru acizii nucleici, acidul tetrahidrofolic, glicogen, grăsimi;

c) investigația izolată a uneia sau mai multor enzime din variatele căi metabolice.

Ca modalități tehnice s-au folosit două căi de abordare a problemelor (Vergnes): a) tehnicile topochemice sau citoenzimologice, indirecte, calitative, ce permit localizarea activității enzimatică în celula intactă; b) tehnicile „directe” care permit evaluarea cantitativă în omogenate sau citolizate a activităților enzimatică, având proteina enzimatică în soluție. Datele sînt uneori contradictorii, în special cu privire la procesele energetice fundamentale, glicoliză și respirație. Din majoritatea studiilor se desprinde totuși concluzia că profilul energetic al granulocitului este de tip glicolitic anaerob, în timp ce al limfocitului, celulă multipotentă funcțional, este de tip oxidativ, aerob. Zimogramele LDH granulocitare sînt de tip catodal (așa cum se obțin din țesuturile cu intensă glicoliză anaerobă)\*. Călea glicolitică anaerobă a fost bine explorată în granulocit. Activitatea glicolitică a granulocitelor este însă dependentă de mediul de incubație, de originea și modul de preparare a suspensiei leucocitare, resuspendarea lor în ser sau plasmă, sau într-un mediu salin artificial. Aceste fapte explică rezultatele variabile și adesea contradictorii cu celea privind existența glicolizei aere, care ar da granulocitului normal caracter de celulă tumorală. Informații mai puțin precise se referă la călea șuntului pentozic, ciclul acizilor tricarboxilici și fosforilarea oxidativă. Producerea de ATP nu a putut fi studiată bine decît la nivel de glicoliză anaerobă leucocitară. Probe mai ales indirecte și foarte puține directe permit să se afirme existența fosforilării oxidative, respiratorii, în granulocite. Acestea sînt:

— prezența efectului Pasteur și al efectului Crabtree (capitolul IX), adică a competiției între sistemul glicolitic și a oxidării fosforilante pentru ADP;

— prezența mitocondriilor cu creste bine definite;

— acțiunea inhibitorilor sistemului de transport electronic ( $\text{CN}^-$ ,  $\text{N}_3\text{Na}$ ) și a agenților decuplanți ai fosforilării oxidative (DNP) asupra incorporării de fosfor  $\text{P}^{32}$ ;

— existența unei slabe fosforilări oxidative în preparatele de mitocondrii leucocitare normale. După unii cercetători, fenomenul este posibil numai în prezență de succinat, malat sau 3-glicerofosfat. Alte experiențe dovedesc că substraturile cele mai indicate în acest caz sînt succinatul și glicerofosfatul. După alți cercetători, fosforilarea oxidativă nu este posibilă decît în celulele leucocice (cu caractere de celule nematurate);

\* Zimogramele limfocitare sînt în general de tip anodal ca în țesuturile cu fosforilare oxidativă intensă, deși uneori s-a obținut și model de tip catodal. Heterogenitatea modelelor poate fi legată de multiplicitatea funcțională a celulei.



numai inhibitorii glicolizei anaerobe (Sbarra și colab. 1972) scad puterea fagocitară a polinuclearului în timp ce inhibitorii respirației și agenții decuplânți ai fosforilării oxidative sînt fără efect asupra acesteia.

Deviații metabolice energetice marcate se observă în cursul hemopatiilor maligne ale seriei albe (mieloleucoze acute și cronice, în special acutizate). Interpretarea rezultatelor pune probleme de heterogenitate a celulelor albe și probleme cu privire la natura procesului proliferativ sau cumulativ. S-ar părea că procesul leucozie reprezintă o acumulare de celule nematurate, încărcate în mod neregulat cu elemente de celulă matură.

Evoluția metabolismului granulocitar în cursul maturării. În măduva osoasă, de la promieloblast către granulocit, celula trece în linii mari prin două faze. În prima fază procesele energetice sînt cele oxidative fosforilante, cît și cele glicolitice, sînt preponderente față de cele hidrolazice (fosfataza alcalină, proteaza, esteraza nespecifică, lizozim). Glicogenul și enzimele implicate în metabolismul său sînt reduse iar peroxidazele caracteristice seriei mielocitare lipsese. În faza a II-a, odată cu apariția granulațiilor specifice, se produc și mieloperoxidaze, hidrolazele ajung la prevalență față de enzimele energetice, în special a celor legate de aparatul mitocondrial care se reduce aproape pînă la dispariție, deși după unii autori succin-dehidrogenaza este prezentă și în granulocitul matur. Depozitele de glicogen cresc, glicoliza anaerobă devine preponderentă energetic iar șuntul pentozic este activ.

**Funcțiile granulocitului neutrofil.** Acesta exercită două funcții dintre care una majoră — fagocitoză — se încadrează în mecanismele de apărare împotriva infecțiilor, iar cealaltă de mai mică amploare este cea secretorie. Granulocitul neutrofil secretă o  $\alpha_2$ -globulină care fixează și transportă vitamina  $B_{12}$  — transcobalamina I. Nivelul de concentrație serică al acestei  $\alpha$ -globuline este proporțional cu masa totală a granulocitelor.

A) **Fagocitoza** este un proces complex în a cărei dinamică se deosebesc trei etape: leucotaxia, fagocitoza propriu-zisă sau ingestia germinilor microbieni, sau a particulei străine și bactericidia, sau distrugerea germinilor. În desfășurarea acestor procese intervin atît factori extracelulari, cît și intracelulari. Leucotaxia — fenomen de chemotaxie — adică atracția și mișcarea neutrofilului către particula sau microbul de fagocitat, se realizează printr-un mecanism incomplet cunoscut. Se consideră că fenomenul ar fi legat de capacitatea leucocitului de a recunoaște „non-selul” și „selul” alterat. Activitatea chemotaxică se manifestă în primul rînd prin activarea sistemului complement seric (în special, componenta  $C_3$ ), prin microorganisme, produse bacteriene și complexe antigen-anticorp. Dintre ceilalți factori chemotaxici pot fi menționați: produse ale degradării collagenului și fibrinei, enzime ale coagulării și fibrinolizei (activatorul plasminogenului), mediatori ai inflamației (calicreina), complexul trimolecular  $C_{5,6,7}$  activat.

Opsorinile, dintre care mai importante sînt IgC și  $C_3$  activat, leagă receptorii pentru IgC și C de pe suprafața bacteriei și a neutrofilului realizînd un fel de punți de legătură.

Fagocitoza este un proces energetic întreținut prin glicoliza anaerobă, după cum s-a mai spus. În urma contactului cu corpul străin — particulă sau microb — granulocitul emite pseudopode care înconjură și apoi includ în corpul său elementul străin. Se formează o vacuolă de fagocitoză sau fagosom, în care este cuprinsă bacteria. Concomitent, se produce o creștere a activității proceselor generatoare de ATP. Fagocitoza poate fi oprită prin

inhibitorii metabolici ai glicolizei anaerobe (acid monoiodacetic). Granulațiile specifice ale neutrofilului fuzionează cu fagozomul, fenomenul manifestându-se ca degranulare iar enzimele de tipul hidrolazelor și lizozimului, în special, se revarsă și distrug peretele bacterian (șoc osmotic) fără a ajunge însă în citosol.

B) Bactericidia. Metabolismul oxidativ asociat cu bactericidia, prin care, se finalizează procesul de fagocitoză îndeplinit de polimorfonucleare și macrofage, este caracterizat prin trei trăsături esențiale:

— creșterea consumului de oxigen;

— stimularea șuntului pentozic în degradarea oxidativă a glucozei pe această cale;

— producerea de apă oxigenată, de anioni superoxid ( $O_2^-$ ) și în mai mică măsură  $^1O_2$  (singlet) — după Allen, 1972 — forme cu nivel energetic ridicat ale oxigenului.

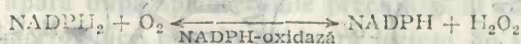
După Karnovszhi (1962), consumul de oxigen crescut și producerea de apă oxigenată ar proveni și din oxidarea NADH (generat în glicoliza anaerobă) prin acțiunea NADH-oxidazei (flavinenzimă).

Legătura între cele două sisteme NADPH-oxidază și NADH-oxidază se stabilește prin reacții auxiliare, dintre care foarte importantă ar fi activitatea transhidrogenazei.

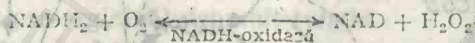
Deoarece enzimele șuntului pentozic nu-și schimbă proprietățile în cursul fagocitozei, s-a sugerat existența unui sistem oxidativ, a cărui activare să justifice creșterea consumului de oxigen  $O_2$  și producerea unui factor stimulator al șuntului. Acesta este NADP, factor limitant al ratei șuntului pentozic ce s-ar produce principal prin acțiunea NADPH-oxidazei (flavinenzimă).

Din ansamblul posibilităților se pot lua în considerație unele mecanisme de reacție, ce pot justifica cele trei trăsături metabolice esențiale ale bactericidiei. Aceste posibilități sint exprimate în mecanismele de reacție redat mai jos.

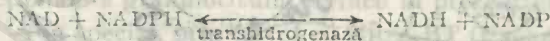
a) Activarea NADPH-oxidazei:



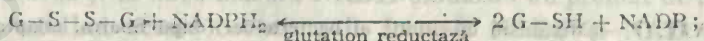
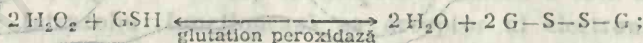
b) Activarea NADH-oxidazei;



c) Activarea transhidrogenazei:

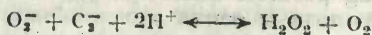


d) Corelarea cu activitatea enzimelor implicate în sistemul glutatation oxidat — glutatation redus:





e) Producerea de  $\text{H}_2\text{O}_2$  din anionul superoxid în soluții apoase sau prin reducerea acestuia :



f) Producerea de oxigen  $^1\text{O}_2$  s-ar face prin dismutarea anionului superoxid (nedovedită în leucocit), fie prin reacția dintre  $\text{H}_2\text{O}_2$ , halide și mieloperoxidază. Anionul superoxid poate reacționa cu apa oxigenată preformată, pentru a da naștere la radicalii liberi ( $\text{OH}^\cdot$ ) care pot provoca peroxidarea lipidelor nesaturate din membranele microbiene. Nu se știe încă sigur, dacă granulocitul conține superoxid-dismutază, pentru anihilarea efectelor toxice ale anionului superoxid și eventual, a oxigenului  $^1\text{O}_2$ . O parte din  $\text{H}_2\text{O}_2$  este folosită direct în bactericidie iar o altă parte fi descompusă prin catalază din peroxisomii leucocitari sau antrenată — după cum s-a arătat mai înainte — în sistemul de echilibrare a glutatationului, oxidat-reduc. Prin fuziunea unui fagozom ce conține o bacterie cu un peroxisom, se poate produce  $\text{H}_2\text{O}_2$ , datorită acțiunii unei D-aminoacid oxidaze bacteriene. Acțiunea bactericidă a  $\text{H}_2\text{O}_2$  în fagozomi poate fi mărită prin prezența halidelor (cu I, Br sau Cl), cu formarea unui complex activ ; MPO (mieloperoxidază) —  $\text{H}_2\text{O}_2$  — halid. De asemenea, Sbarra (1972) susține existența sistemului antimicrobian puternic ce se realizează printr-o reacție peroxidază dependentă de cloruri (ionul  $\text{Cl}^-$ ) sau de ioduri ( $\text{I}^-$ ). Sistemul implică decarboxilarea și dezaminarea aminoacizilor bacterieni, cu formare de cloramine instabile,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$ , ioni halogeni și aldehida corespunzătoare aminoacidului de la care a pornit reacția (aldehida formică, dacă aminoacidul în cauză este glicocolul). Ansamblul reacțiilor este redat în fig. XIV.17.

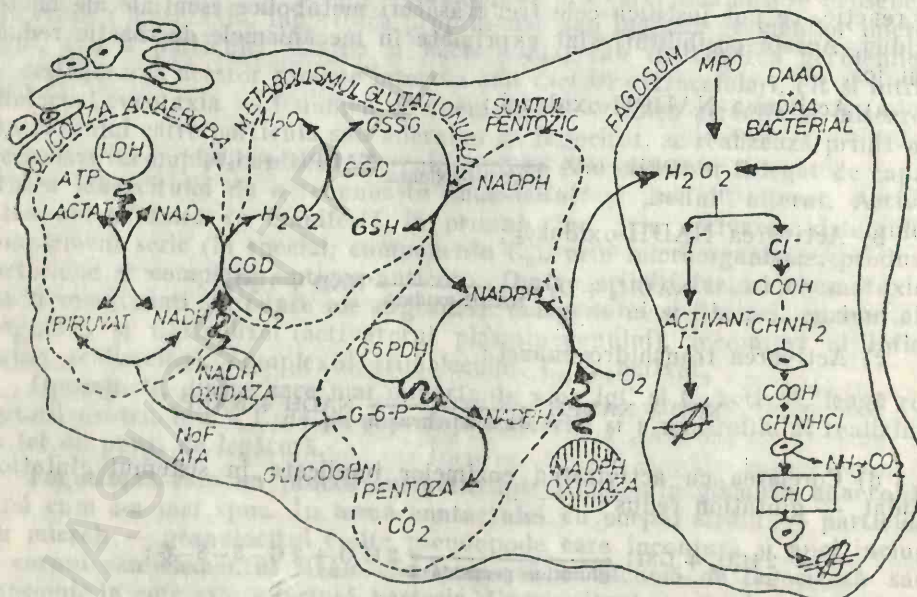


Fig. XIV.17 — Mecanism biochimic al bactericidiei (după Sbarra, adaptare).

Deoarece vacuola fagocitară (fagozomul) nu poate fi eliminată din celulă (granulocit sau macrofag), conținutul său este revărsat în celulă distrugînd-o. Din acest motiv fagozomul este denumit „sac de sinucidere“. Referitor la ierarhizarea fenomenelor biochimice implicate în bactericidie, există în prezent două ipoteze și anume:

— producerea accelerată de  $H_2O_2$ , ce ar avea drept consecință directă stimularea șuntului-pentozic;

— stimularea activității NADPH-oxidazei, flavinenzimă ce catalizează reducerea directă a oxigenului la  $H_2O_2$  prin NADPH.

Declanșarea procesului de stimulare a șuntului pentozic s-ar face conform schimbărilor biochimice ce se petrec la suprafața celulei fagocitare, intervenind în reglarea activității NADPH-oxidazei. Modificările metabolice intracelulare sînt mediate prin alterarea interacției lipide-proteine din membrana celulară.

Patologia innăscută a leucocitului. Se cunosc două afecțiuni importante.

a) *Granulomatoza cronică letală* a copilului, cu transmisie recesivă legată de sex. A fost descrisă în 1957 de Good și colab. În 1967 Holmes și colab., Baehner și Nathan au publicat datele esențiale asupra capacității metabolice deficitare a granulocitului în cursul fagocitozei, mai ales în etapa bactericidiei, anomalia fiind legată de producerea de  $H_2O_2$ . S-a observat că deși granulocitele înglobează microorganismele și glicoliza anaerobă se intensifică, consumul de oxigen și producerea de  $H_2O_2$  lipsesc iar bactericidia nu are loc. Deficitul enzimatic pare localizat principal la nivelul NADPH-oxidazei. Se cunosc variante cu localizarea viciului metabolic la nivelul MPO sau al glutathionreductazei (fig. XIV.18).

Tabloul clinic este dominat de infecții și supurații multiple. Deficitul dobîndit poate să apară după splenectomie precum și în unele limfopatii maligne. Examenele morfologice pun în evidență leziuni de tip granulomatos.

b) *Deficiența de tufstin* determină sindromul familial al deficienței de fagocitoză, cu infecții prelungite și repetate. Lipsește tetrapeptidul stimulant al fagocitozei (thr-lis-pro-arginină) denumit tufstin.

Anomalii secundare, dobîndite, ale fagocitozei se pot petrece în leucemii acute, limfoame maligne, diabet zaharat, artrită reumatoidă etc.

Testarea funcțională a granulocitului se face în prezent cu ajutorul sărurilor de tetrazoliu — în special, prin testul cu Nitro-BT (Baehner ; R., Nathan D. G.) pentru investigarea funcției capitale a acesteia, fagocitoza și bactericidia. Tehnica se bazează pe reducerea NBT — cu formare de granulații de formazan violet purpur — ce reprezintă forma redusă a sării de tetrazoliu. Compusul de tetrazoliu funcționează ca acceptor al electronilor pe care NADPH-oxidaza și în mică măsură NADH-oxidaza i-au preluat de la NADPH și NADH, oxidînd aceste coenzime în formele NADP și NAD. Principiul



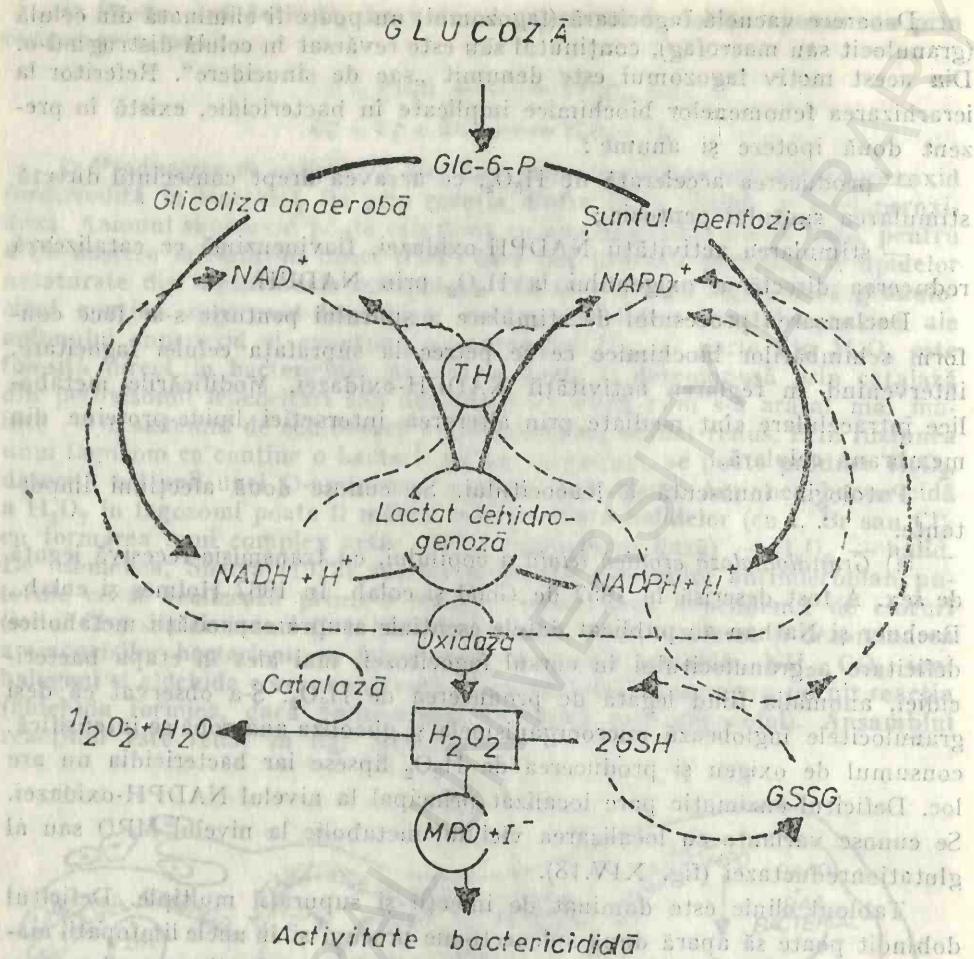


Fig. XIV.18 — Deficitul metabolic în granulatoza cronică letală a copilului.

testului este redat în fig. XIV.19. Testul este negativ în cazul de granulocitoză cronică la copiii de sex masculin și slab la cei de sex feminin.

O altă deficiență enzimatică pusă în evidență prin procesele mieloleucocice cronice, este absența fosfatazei alcaline, corelată cu prezența cromozomului Filadelfia-21.

**Eozinofilele și bazofilele.** a) Eozinofilul posedă capacitatea fagocitantă. Factorii chimicotaxici activi asupra eozinofilului sînt complexe antigen-anticorp, complementul-C<sub>3,6,7</sub>, fibrina, serotonina, histamina — care îi reduc efectul inflamator și enzimele proteolitice. În cursul reacțiilor anafilactice, eozinofilul suferă acțiunea chimicotaxică a IgG<sub>1</sub>. Se pare că eozinofilul are un rol în limitarea leziunilor produse prin complexe imune (1973). Deși participă la procesele de apărare și fenomenele energetice ce se petrec în cursul fagocitozei și formării fagozomului, nu se cunosc încă cu precizie datele

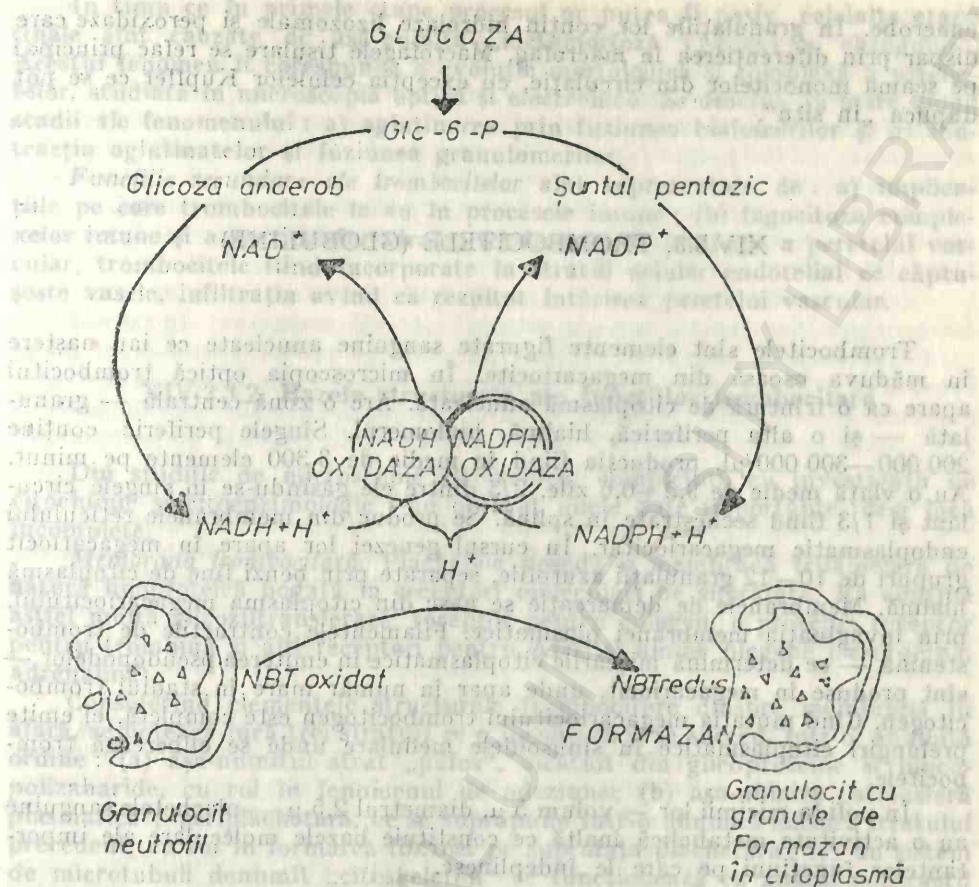


Fig. XIV.19 — Principiul chimic al tesutului Nitro BT. (Baehner și Nathan)

în această privință. b) Bazofilul participă la fagocitoză într-o măsură mult mai redusă. Prin degranularea granulocitului respectiv se eliberează histamină, serotonină și heparină, factori de clarificare ai plasmiei în cursul hiperlipemiei post-prandiale ce acționează asupra trigliceridelor. Prin eliberarea heparinei (agent antitrombinic), bazofilul este corelat și cu hemostaza. Prin eliberarea de histamină și serotonină, bazofilul intervine în inflamații, substanțele respective eliberate având o acțiune asupra vaselor.

#### XIV.3.2.2. Monocitul

Acesta se formează în măduva osoasă. El se diferențiază în macrofag, schimbându-și metabolismul odată cu morfologia, în funcție de țesutul în care s-a produs fenomenul. Macrofagele alveolare (pulmonare) au profil energetic oxidativ, respirator, iar altele sînt dependente de procesele glicolitice



anaerobe. În granulațiile lor conțin hidrolaze lizozomale și peroxidaze care dispar prin diferențierea în macrofag. Macrofagele tisulare se refac principal pe seama monocitelor din circulație, cu excepția celulelor Kupffer ce se pot duplica „in situ”.

#### XIV.3.3. TROMBOCITELE (GLOBULINE)

Trombocitele sînt elemente figurate sanguine anucleate ce iau naștere în măduva osoasă din megacariocite. În microscopia optică trombocitul apare ca o frîntură de citoplasmă anucleată. Are o zonă centrală — granulată — și o altă periferică, hialină, hialomerul. Singele periferic conține 200 000—300 000/ $\mu$ l, producția fiind în medie de 3 300 elemente pe minut. Au o viață medie de  $9,5 \pm 0,6$  zile, 2/3 dintre ele găsindu-se în singele circulant și 1/3 fiind sechestrate în splină. Se produc din membranele reticulului endoplasmatic megacariocitar. În cursul genezei lor apare în megacariocit grupuri de 10—12 granulații azurofile, separate prin benzi fine de citoplasmă hialină. Membranele de demarcație se nasc din citoplasma megacariocitului, prin invaginația membranei plasmactice. Filamentele contractile de trombostenină — ce determină mișcările citoplasmactice în emiterea pseudopodelor — sînt produse în megacariocit, unde apar în număr mare în stadiul trombocitogen. Cînd mutația megacariocitului trombocitogen este completă, el emite prelungiri citoplasmactice în sinusoidale medulare unde se eliberează trombocitele.

În pofida micimii lor — volum 5  $\mu$ , diametrul 2,5  $\mu$  — plachetele sanguine au o activitate metabolică înaltă ce constituie bazele moleculare ale importantelor funcțiuni pe care le îndeplinesc.

##### XIV.3.3.1. Funcțiile trombocitului

*Funcția fundamentală* a trombocitului este participarea sa la hemostază, atît în faza celulară cît și în cea plasmatică a coagulării. Acțiunea sa se desfășoară în următorii patru timpi (sau etape):

— timpul 1, parietal, ele exercită o acțiune vasculotonică, prin serotonină pe care o eliberează;

— timpul 2, plachetar, realizează adezivitatea la sediul leziunii peretelui vascular și agregarea cu formarea trombusului alb trombocitar, voluminos, permeabil și fragil, care oprește inițial sîngerarea;

— timpul 3, plasmatic, plachetele intervin în coagulare prin factorul 3 trombocitar de natură preponderent lichidă și transportă factorii de coagulare în atmosfera periplachetară;

— timpul 4, trombodinamic, prin contracția trombosteninei se produce retracția cheagului (în cursul căreia fibrina joacă probabil un rol pasiv).

În timp ce în primele etape procesul ar putea fi pasiv, celelalte etape finale sînt cauzate de așa-numita „metamorfoză viscoasă a cheagului“. Acestui fenomen îi corespunde o evoluție morfologică și complexă a plachetelor, studiată în microscopia optică și electronică. Se descriu, în mare, două stadii ale fenomenului: a) aglutinarea prin fuziunea hialomerilor și b) contracția aglutinatelor și fuziunea granulomerilor.

*Funcțiile secundare ale trombocitelor* sînt reprezentate de: a) implicațiile pe care trombocitele le au în procesele imune; (b) fagocitoza complexelor imune și a particulelor virale; (c) funcția de protecție a peretelui vascular, trombocitele fiind încorporate în stratul celular endotelial ce captează vasele, infiltrația avînd ca rezultat înfărirea peretelui vascular.

#### XIV.3.3.2. Bazele structurale ale funcțiilor trombocitare

Din studiile de microscopie electronică, completate cu investigații de citochimie și citoenzimologie s-au obținut unele date importante, deși încă incomplete.

*Membrana trombocitară.* Plachetele posedă o membrană trilamelară de natură lipoproteică bogată în receptori moleculari de suprafață. Ea conține astfel multă glicoziltransferază, receptor pentru collagen, o proteină receptor pentru trombină și alți receptori pentru ADP și amine biogene (serotonină, adrenalină).

Considerînd elementele structurale trombocitare dinspre membrană în afară, se notează încă trei straturi ce o înconjură și se succed într-o anumită ordine: (a) așa-numitul strat „pufos“, alcătuit din glicoproteine și mucopolizaharide, cu rol în fenomenul de adeziune; (b) așa-numita „atmosferă plasmatică“, periplachetară, ce se suprapune într-o anumită măsură stratului precedent, cu rol în formarea fibrinei pe suprafața plachetară; (c) un sistem de microtubuli denumit „citoskeleton“ ce funcționează ca aparat contractil intrinsec, conținînd trombostenina. De altfel, microtubulii pot suferi transformarea reversibilă în microfibrile.

*Organile celulare.* Din punct de vedere infrastructural, în citoplasma plachetară se găsesc: mitocondriile cu echipamentul enzimatic corespunzător fosforilării oxidative, lizozomii cu hidrolaze acide și anumite granule. Dintre acestea menționăm: granulele ce conțin fosfolipide, enzime hidrolazice și fibrinogen; corpii denși cu serotonină, catecolamine, ADP și ATP, factorul 4-trombocitar. În citoplasmă se mai găsesc granule de glicogen, bacterii, virusuri și complexe imune.

#### XIV.3.3.3. Bazele moleculare ale funcțiilor trombocitare

*Proteine.* O mare parte din constituenții plachetari sînt de natură proteică (52% din greutatea uscată) incluzînd proteina funcțională importantă — trombostenina — și un bogat echipament enzimatic. Trombostenina însăși — proteină contractilă asemănătoare actomiozinei din mușchii scheletici — are activitate enzimatică, ATP-azică, activată prin  $\text{Ca}^{++}$  și  $\text{Mg}^{++}$ .



Ea reprezintă 15% din proteinele totale ale trombocitelor umane, adică 1-3% din greutatea plachetei proaspete.

Lipidele sînt reprezentate principal, prin fosfolipide. Factorul 3-trombocitar din membranele și granulele plachetare este o lipoproteină termostabilă. În membrana trombocitară se găsește o cantitate apreciabilă de acid N-acetilneuraminic, fosfatidiletanolamină, serină și două cefaline importante pentru hemostază.

Hidrații de carbon reprezintă 8% din greutatea trombocitului. Acesta posedă și antigene specifice (de natură glicoproteică) și de histocompatibilitate (HL-A).

Echipamentul enzimatic al trombocitului este complex și corespunzător exigențelor funcționale ale principalelor căi energetice. În citosol sînt prezente enzimele active în glicoliza anaerobă și șuntul pentozic. În mitocondrii, ca în toate celulele, sînt localizate enzimele ciclului Krebs și ale transportului de electroni, fosforilant. Mitocondriile plachetare posedă ADN și ARN (stabil), fiind în măsură să sintetizeze mici cantități de proteine (de exemplu, factorul de stabilizare a fibrinei).

Rezerva de NAD-NADH este corelată cu activitatea intensă a căii glicolitice trombocitare și corespunde unei cantități apreciabile. Sistemul adenilic este bine reprezentat și funcțional indispensabil, cu puncte de intervenție bine precizate. Conținutul în ATP este de 150 de ori mai mare decît al eritrocitului. Acești compusi sînt necesari menținerii funcțiilor endergonice plachetare și utilizați pe măsura nevoilor. În agregarea plachetară ATP și AMP ar acționa ca inhibitori. De asemenea, funcțiile de captare și transport asigurate de plachete sînt dependente de ADP.

AMP condiționează răspunsul trombocitar la diferiți stimuli. După cum s-a arătat, funcția trombocitară fundamentală se desfășoară în etape ce cuprind: adeziune, agregare primară, reacții de eliberare a unor componente, agregare secundară, contracții. Stimulatori ai funcției trombocitare sînt toate substanțele ce induc agregarea și reacțiile de liberare. Se cunosc: inductori slabi, cu greutate moleculară mică ca: ADP, adrenalina, noradrenalina, vasopresina, serotonina; inductori puternici enzimatici — enzime proteolitice ca trombina, tripsina, veninuri de șerpi, papaina; inductori puternici de natură diferită ca: material particulat (latex), collagen, acizi grași, endotoxine, complexe antigen-anticorp. Ca urmare a interacției între membrana trombocitară și inductori se eliberează ioni de  $Ca^{++}$ , activatori ai sistemelor enzimice, corelate cu executarea funcțiilor (ca de ex. contracția celulei). După interacția membrano-trombocitară-inductor forma plachetelor se schimbă, devenind sferică din discoidală, cu apariția unor prelungiri, iar suprafața devine adezivă.

#### XIV.3.3.4. Analogia metabolică între trombocit și mușchiul scheletic de „salt”

Se vorbește despre această analogie în special în urma lucrărilor școlii de la Marburg. Din lucrările lui Bücher și ale lui Gross, Delbruck și Vogel reiese că plachetele corespund din punct de vedere energetic tipului de mușchi striat de „salt”, studiat la *Locusta migratoria*. Acest mușchi funcționează

periodic, exploziv și cu lungi intervale de repaus. Față de acesta, trombocitul se situează ca un caz limită. Mușchiul conține puține mitocondrii dar este bogat în enzime glicolitice anaerobe ca și trombocitul. Conținutul în glicogen al plachetelor este foarte ridicat:  $28 \pm 10$  M/10<sup>12</sup> trombocite, corespunzător raportului de concentrație de mușchi. Trombostenina, proteina contractilă trombocitară cu proprietăți ATP-azice, Mg<sup>++</sup> — activată ar aparține, după Bettex-Galland și Lüscher care au preparat-o, grupului actinmiozinei. Ea ar fi suportul retracției cheagului „in vitro”. Spre deosebire de mușchiul scheletic, trombocitul, nu conține creatinfosfat-kinaza (CPK) dar are enzimele șuntului pentozic, absente în mușchi.

În biologia trombocitului există un singur moment în care el este angajat într-o mare cheltuială de energie: metamorfoza viscoasă și retracția cheagului. Se sugerează că metamorfoza viscoasă și retracția cheagului sînt fenomene combinate, două expresii diferite ale capacității retractive a plachetelor. Prima se referă la retracția în absența fibrinei, cealaltă în prezența ei. Afirmția se sprijină pe trei feluri de argumente și anume:

- paralelismul care există „in vitro” între diminuarea glicolizei anaerobe, produsă prin inhibitori specifici în anumite concentrații, scăderea nivelului de ATP și pierderea retracțilității cheagului. Monodacetatul inhibitor al gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenazei și NaF, inhibitor al glicolizei la nivelul enolazei, abolește reacția cheagului. Prin inhibiția hexokinazei prin 3,5-dinitrobenzoilglucozamină se provoacă de asemenea inhibiția retracției cheagului;

- capacitatea cheagului de a se retracta corespunde unei concentrații critice de ATP și anume, 50% din valoarea normală. Diminuarea concentrației ATP precede retracția cheagului. În trombocitul intact ATP este „protejat” de distrugerea sa prin ATP-ază. Contractul între ATP-ATP-ază s-ar produce numai în momentul metamorfozei viscoase;

- în trombostenii, în care metamorfoza viscoasă este tulburată și cheagul neretractil, se semnalează scăderea intensității glicolizei și a nivelului corespunzător de ATP.

Privind în linii mari ansamblul metabolic al trombocitelor, trebuie subliniat faptul că ele dispun de un sistem glicolitic foarte dezvoltat, susceptibil de a fi activat la începutul retracției. Puterea lor retractivă este în raport cu nivelul de concentrație al ATP-ului, ce se consumă în cursul retracției cheagului.

#### IV.3.3.5. Patologia biochimică a trombocitului

Dintre anomaliile enzimatice plachetare, o atenție deosebită se acordă bolii lui Glanzmann, trombostenia hemoragică ereditară, ce pare să aibă transmitere recesivă, autosomală, cu atingerea ambelor sexe. Tabloul biologic este caracterizat prin: (a) număr obișnuit de trombocite, dar anormale, rotunde, mici, întotdeauna izolate pe lamă, cu defecte de formare a pseudopodelor și absența metamorfozei viscoase; (b) coagulare normală, eliberarea factorului plachetar 3 nefiind modificată; (c) cheagul nu se retractă, trombocitele



fiind incapabile de a suferi metamorfoza viscoasă. Pe plan molecular, deficitul privește trei aspecte: metabolismul glucidic, ATP și trombostenina. Într-o formă de trombastenienie este pierdută activitatea a două enzime-cheie a glicolizei anaerobe: gliceraldehidfosfatdehidrogenaza (GAPDH) și piruvat-kinaza (PK), cu scăderea consecutivă a nivelului de ATP. O altă formă este cu nivel normal al celor două enzime glicolitice dar cu scădere de ATP. Se mai cunosc și alte tulburări congenitale ca: cele de adeziune la collagen sau la alte structuri subendoteliale (Willebrand), tulburări în eliberarea de ADP (efect asemănător excesului terapeutic de aspirină), tulburare primară de agregare la ADP (trombastenie).

#### XIV.4. HEMOSTAZA ȘI FIBRINOLIZA

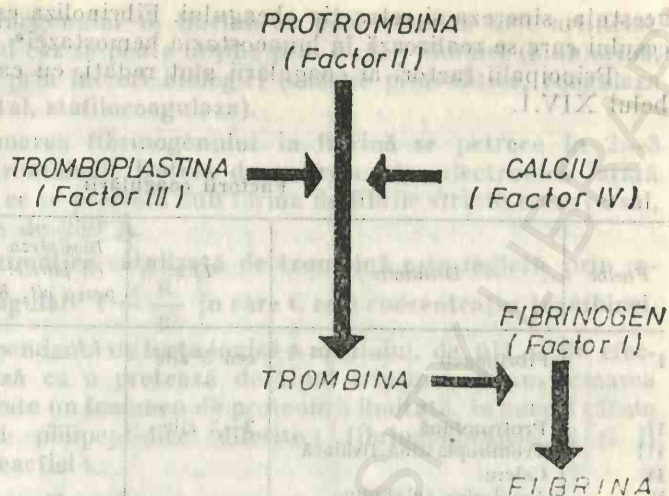
Un important capitol al biochimiei sîngelui îl constituie factorii și mecanismele de reacție care fundamentează, la nivelul molecular, fenomenul complex denumit de autorii anglo-saxoni „hemostazia hemostazei“, denumire adoptată și de hematologii români, iar de cei latini „echilibrul fluideo-coagulant“ sau funcția de coagulabilitate. Hemostaza împreună cu fibrinoliza alcătuiesc un sistem de mecanisme antagoniste și interdependente, din al căror echilibru funcțional rezultă atît păstrarea potențialului hemostatic al sîngelui, cît și fluiditatea acestuia. Deși cele două procese alcătuiesc un tot funcțional interdependent, prezentarea analitică a fiecăruia în parte se impune ca o necesitate pentru înțelegerea mai bună a ansamblului. Atît coagularea, cît și fibrinoliza sînt procese reglate enzimatic, a căror tulburare și dezechilibru favorizează fie formarea de trombuși (cheaguri) (prin activarea coagulării sau scăderea fibrinolizei), fie sîngerare (prin scăderea coagulării și creșterea fibrinolizei).

##### XIV.4.1. COAGULAREA (FAZELE ȘI FACTORII PRINCIPALI AI COAGULĂRII)

În esență, fenomenul coagulării sîngelui constă în transformarea fibrinogenului în fibrină insolubilă. Particularitățile caracteristice acestui proces sînt:

- numărul mare de activatori și inhibitori care intervin;
- existența majorității factorilor coagulării ca precursori;
- preponderent, factorii coagulării sînt proteaze ce se produc prin proteoliză limitată din formele lor inactive;
- transformarea factorilor coagulării, din forme inactive în forme active, se face prin autocataliză determinată de propriile lor produse;

Fig. XIV.20. — Schema  
coagulării sîngelui —  
Morawitz.



— unii dintre factori, ca de ex.  $\text{Ca}^{++}$ , au acțiune multiplă, intervenind aproape în toți timpii coagulării;

— procesul complex se desfășoară „în cascadă”. Faza de latență este formată de o avalanșă de transformări accelerate ale factorilor coagulării, prin forme inactive și forme active.

Fenomenul implică participarea unui număr de 13 factori cunoscuți la care se adaugă în prezent, factorul Willebrand (deci al 14-lea). Descoperirea fibrinei de către Mălpighi, apoi a fibrinogenului (1859), a tromboplastinei — produsă din trombocite la contactul cu o suprafață străină — și cunoașterea acțiunii ionilor de  $\text{Ca}^{++}$ , au pus bazele teoriei clasice a coagulării, datorată lui Morawitz, exprimată în fig. XIV.20.

În desfășurarea procesului coagulării se deosebesc faze distincte care, în ordinea desfășurării lor cronologice, se eșalonează în doi timpi și anume:

— timpul parietal, în cursul căruia se produce vasoconstricția capilarelor în țesutul lezat, controlată prin serotonină, catecolamine, elaborate de trombocite și peretele lezat. Fibrele de collagen ale vasului lezat atrag trombocitele prin acțiuni electrostatice, datorate grupărilor hidrocarbonate legate de resturile hidroxilizinei pe care le conține. Pe primul strat plachetar fixat astfel, se așază mai departe alte trombocite cu producerea unui agregat pentru a cărui formare este necesar ATP. După agregarea lor, trombocitele suferă așa numita metamorfoză viscoasă, fenomen de liză cu formarea unei mase viscoase. În cursul acestei transformări se pun în libertate o serie de factori proprii trombocitari, catalizatori indispensabili ai coagulării, mai ales factorul 3 tromboplastic, factorul protidic  $\text{F}_2$ , precum și compuși activi ca: serotonină, accelerina, antifibrinolizina;

— timpul plasmatic, faza adevărată a coagulării, care conduce la formarea cheagului rezistent, în care sînt implicate mecanisme chimice în acțiune: căile extrinsecă și intrinsecă care vor fi prezentate mai departe în amănunt. Procesul se desfășoară în patru etape succesive: producerea protrombinazei, generarea trombinei, transformarea fibrinogenului în fibrină cu stabilizarea



acestui, sinereza și rețracția cheagului. Fibrinoliza este ultimul timp al procesului care se realizează în homeostazia hemostazei\*.

Principalii factori ai coagulării sînt redați, cu caracteristicile lor în Tabelul XIV.1.

Tabelul XIV.1

Factorii coagulării

Factor	Denumire	T/2	Sinteză cu partici parea vit. K	Coagulopatie congenitală
I	Fibrinogen	cca 5 zile	—	Afibrinogenemie, hipofibrinogenemie, disfibrinogenemie
II	Protrombină	2—3 zile	+	Hipoprotrombinemie
III	Tromboplastină tisulară	—	—	—
IV	Calciu	—	—	—
V	Accelerina (globulina acceleratoare, factor labil)	—	—	Parahemofilie OWREN (hipo accelerinemie)
VI	Anulat	—	—	—
VII	Proconvertina, factor stabil	5 ore	+	Hipoproconvertinemie
VIII	Factor A antihemofilie	20 ore	—	Hemofilia A
IX	Factor B antihemofilie	20 ore	+	Hemofilia B, lipsă factor Stuart-Pröwer
X	Factor Stuart-Pröwer	2 zile	+	—
XI	Antecedentul plăstinei plasmatică (PTA)	2 zile	—	Lipsă PTA (sindrom ROSENTHAL)
XII	Factor Hageman	2 zile	—	Lipsă factor Hageman
XIII	Factor stabilizator fibrină (FSF) Laki-Lorand	5 zile	—	Lipsă FSF

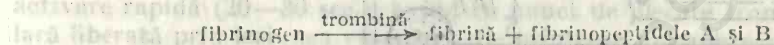
Factorul I sau fibrinogenul este o proteină cu formă moleculară alungită, cu raport axial 20:1, una din cele mai puțin solubile din sistemul proteic sanguin. Are mobilitate electroforetică  $\beta$ - $\gamma$ ; este conținut în fracțiunea I a lui Cohn, obținută la o concentrație de 8% etanol, pH 2,7 la temperatură 0°. Este o glicoproteină cu greutate moleculară 330 000—340 000 daltoni, avînd coeficient de sedimentare 7,60 și punct izoelectric 5,3. Numai 40% din moleculă are structura helicoidală. Fibrinogenul este alcătuit din 6 lanțuri peptidice, grupate cîte două. Perechile diferă una de cealaltă prin aminoacidul N-terminal și anume: o pereche are tirozina cu grupare terminală, a doua are acidul piroglutamic, iar a treia alanina. Componentele glucidice sînt în următoarele proporții: hexoze (D-galactoză și D-manoză) 1,6—3,2%, aminozaharuri 0,56—1% și acid sialic 0,5—0,8%. Unirea lanțurilor glucidice cu cele peptidice se face printr-o legătură glicozil-aminil-arginină (aspartat-N-acetil-glucosaminil-arginină, ca în orozomucoid și  $\gamma$ -globuline). Este de subliniat faptul că oxidarea glucidelor din fibrinogen îl face inapt pentru fenomenul coagulării.

\* Nomenclatura adoptată pentru diferiții factori ai coagulării nu este unită. Atît diversitatea denumirilor cit și păstrarea acelor care reprezintă numele patronomic al bolnavilor, creează un oarecare grad de confuzie și face dificilă descrierea fenomenului (G. Porpa).

Transformarea fibrinogenului în fibrină se poate realiza atât artificial, cât și fiziologic. În primul caz se poate obține prin factori chimici (ninhidrină, aloxan, cloramină T) și prin factori biologici (enzime proteolitice, coagulaza din veninul de șarpe crotal, stafilocagulaza).

Fiziologic, transformarea fibrinogenului în fibrină se petrece în 2—3 secunde sub acțiunea trombinei. Datele de microscopie electronică arată structura fină a fibrinei, ce se prezintă sub forma de fibrile striate transversal, cu o periodicitate medie de 230 Å.

Cinetica reacției enzimatice catalizată de trombină este reglată prin relația Quik : timpul de coagulare  $T = \frac{K}{C}$  în care C este concentrația trombinei, iar K este o constantă dependentă de forța ionică a mediului, de pH și de efectori. Trombina acționează ca o protează de tipul tripsinei. Transformarea fibrinogenului în fibrină este un fenomen de proteoliză limitată, în cursul căruia se produc două lanțuri polipeptidice diferite: fibrinopeptidele A și B (fig. XIV.21), conform reacției :

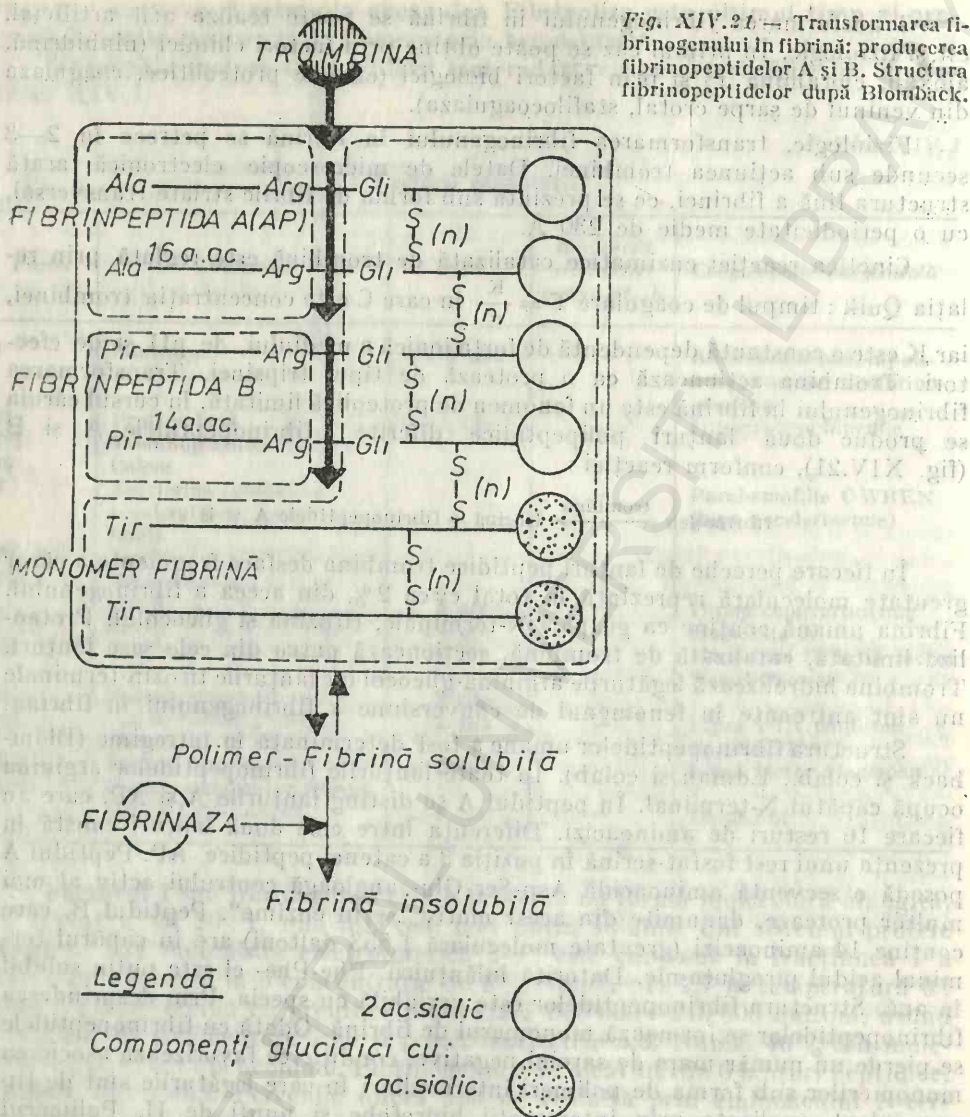


În fiecare pereche de lanțuri peptidice trombina desface fragmente a căror greutate moleculară reprezintă în total circa 2% din aceea a fibrinogenului. Fibrina umană conține ca grupări N-terminale, tirozina și glicocolul. Proteoliza limitată, catalizată de trombină, secționează patru din cele șase lanțuri. Trombina hidrolizează legăturile arginină-glicocol iar lanțurile tirozin-terminale nu sînt antrenate în fenomenul de conversiune a fibrinogenului în fibrină.

Structura fibrinopeptidelor umane a fost determinată în întregime (Blömbäck și colab., Edman și colab). În toate lanțurile fibrinopeptidelor arginina ocupă capătul N-terminal. În peptidul A se disting lanțurile A și AP, care au fiecare 16 resturi de aminoacizi. Diferența între cele două lanțuri constă în prezența unui rest fosfat-serină în poziția 3 a catenei peptidice AP. Peptidul A posedă o secvență aminoacidă Asp-Ser-Glu- analoagă centrului activ al mai multor proteaze, denumite din acest motiv „serin enzime“. Peptidul B, care conține 14 aminoacizi (greutate moleculară 1 553 daltoni) are în capătul terminal acidul piroglutamic. Datorită înlănțuirii -Phe-Phe- el este puțin solubil în apă. Structura fibrinopeptidelor este variabilă cu specia. Prin desprinderea fibrinopeptidelor se formează monomerul de fibrină. Odată cu fibrinopeptidele se pierde un număr mare de sarcini negative, condiție ce favorizează asocierea monomerilor sub forma de polimeri intermediari în care legăturile sînt de tip necovalent, realizate prin interacții hidrofobe și punți de H. Polimerul reprezintă fibrina solubilă care din punct de vedere mecanic este instabilă. Polimerizarea monomerilor de fibrină se face pe două direcții : longitudinală cu formarea fibrilelor sau fibrelor primare de fibrină și transversală, cu producerea fibrelor secundare de fibrină, datorită punților de H ce se stabilesc între tirozina și histidina din două fibre primare. Această polimerizare în dublă direcție are ca efect o gelificare, cu trecerea monomerilor de fibrină din starea de sol, în cea de gel. Fibrinaza, sau factorul Lacki-Lorand, de stabilizare a fibrinei, activat prin trombină, intervine pentru formarea fibrinei insolubile care conferă cheagului rigiditate. Efectul se datorează faptului că se stabilesc legături covalente, peptidice, între grupările α-amino din resturile de lizină și grupările carboxil din resturile de glutamină. Se pare că fibrinaza intervine



Fig. XIV.21 — Transformarea fibrinogenului în fibrină: producerea fibrinopeptidelor A și B. Structura fibrinopeptidelor după Blomback.



și la nivelul resturilor de acid sialic. Prin retracție, cheagul eliberează serul care are în minus față de plasmă fibrinogenul. Toți ceilalți factori ai coagulării, cu excepția tromboplastinei tisulare sînt glicoproteine ca și fibrinogenul (concentrație plasmatică : 200—400 mg%).

Factorul II sau protrombina este o proendopeptidază, precursor al trombinei de natură glicoproteică, cu mobilitate  $\alpha_2$ -globulinică. Greutatea sa moleculară este de 63 000 daltoni, avînd un punct izoelectric de 5. Este caracterizată printr-un conținut ridicat de acizi glutamic și aspartic, arginină, lizină și triptofan. Conține 4,6% hexoze, 2,3% hexozamine, 4,2% acid sialic, 0,09% fucoză. Este sintetizată în ficat în prezența vitaminei K și atinge în plasmă

concentrația de 80 mg%. Este absorbită pe sulfat de Ba și fosfat tricaleic. Antivitaminele K coboară nivelul protrombinei ca și al tuturor factorilor absorbabili pe sulfat de Ba (proconvertina, factorul Stuart, antihemofilie B).

Factorul III sau tromboplastina tisulară, sinonim cu trombokinaza sau tromboplastina extrinsecă. Această substanță catalizează transformarea protrombinei în trombină și este de natură lipoproteică. Activitatea sa este legată de microzomi.

Factorul IV este reprezentat de ionii  $\text{Ca}^{++}$  ce acționează în diferite etape ale coagulării, catalizează mai multe trepte ale formării trombinei.

Factorul V, proaccelerina sinonim cu accelerina, trombokinaza sau tromboplastina intrinsecă este un factor labil, o globulină cu mobilitate electroforetică  $\alpha_2$ - $\beta$ , greutate moleculară 290 000 și punct izoelectric 8,68. Proaccelerina este trecută în forma sa activată prin factorul STUART activat (factor X). Proaccelerina activată este sinonimă cu principiul de convertire al protrombinei, PCT (Prothrombin converting Principle). Transformarea se face numai în prezența ionilor de  $\text{Ca}^{++}$ . Se realizează fie printr-un mecanism de activare rapidă (20—30 sec.), avînd ca punct de plecare tromboplastina tisulară liberată prin leziunea vasculară, fie printr-un mecanism mai lent care implică un număr mai mare de factori participanți (durează cîteva minute).

Factorul VI a fost anulat.

Factorul VII sau proconvertina, factor stabil sinonim cu cotromboplastina sau autoprotrombina I, este o globulină cu mobilitate electroforetică  $\alpha$ - $\beta$  cu greutate moleculară 15 000—25 000, în singele normal avînd concentrația 10—15 mg/l. Este sintetizată în ficat cu participarea vitaminei K și localizată în fracțiunea I a lui Cohn.

Factorul VIII, globulina antihemofilică A (AHG), sinonim cofactorul plachetar I, tromboplastinogen A (F.A.H., factor A antitrombinic, antihemofilic), este o  $\alpha_2$ -globulină cu greutate moleculară 190 000 daltoni, coeficient de sedimentare 6,5, punct izoelectric 6,4. În plasma umană are concentrația de 0,05 mg/ml = 1 uI/ml.

Factorul IX sau F.A.H.B., sinonim cu factorul antihemofilic B, factorul Christmas, cofactor plachetar II, autoprotrombina II, tromboplastina B este o  $\alpha_1\alpha_2$ -globulină după unii autori, iar după alții are mobilitate electroforetică  $\beta$ , cu greutate moleculară 50 000—110 000 daltoni, coeficient de sedimentare 4,33. Concentrația sa este de 1 uI/ml plasmă sau ser. Este sintetizat în ficat cu participarea vitaminei K. Este activat în prezența ionilor de  $\text{Ca}^{++}$ , heparina suprimînd acest efect.

Factorul X, Stuart-Prower sau autoprotrombina III, este o  $\alpha_1$ -globulină cu greutate moleculară 85 000—87 000 daltoni, coeficient de sedimentare 4,23, pII izoelectric 4,75. Este sintetizat în ficat în prezența vitaminei K. Poate fi activat prin enzime proteolitice — tripsină, papaină — sau prin citrat de sodiu 25%. În cursul activării se produc schimbări la nivelul grupărilor N-terminale din lanțul peptidic respectiv. Factorul Stuart activat este sinonim cu antiprotrombina C a lui Seegers. Este o glicoproteină cu 7% glucide și greutate moleculară 24 000 daltoni. Are activitate esterazică și poate fi inhibat prin inhibitorul tripsinei din boabele de soia.

Factorul XI, sau Rosenthal sau PTA, este o  $\beta$ -globulină cu activitate esterazică. Hidrolizează esterul metilic al tosil-argininei sau TAME (tosil-arginină-metil-ester).



Factorul XII sau factorul Hageman, factor de contact sau factor de suprafață (surface factor) este o  $\alpha_2$ -globulină cu greutate moleculară 82 000 daltoni, coeficient de sedimentare 7,68 și pH izoelectric 7,08. În plasmă are concentrația de 0,01 mg/ml. Este instabil, activat prin contactul cu sticla sau prin acidul elagic, derivat din acidul galic.

Factorul XIII, fibrinaza sau FSF (factor de stabilizare a fibrinei), sinonim cu factorul Laki-Lorand, este o transglutaminază plasmatică. Are o mobilitate electroforetică  $\alpha_2$  cu greutate moleculară de 170 000 și se asociază cu gamma-globulină cu greutate moleculară 350 000.

Factorul XIV, cunoscut mai ales prin funcția sa și prin natura sa, este socotit factor de antisingerare sau anti-Willebrand sau factorul Nilsson. În ansamblu factorii coagularii rămân totuși 13 deoarece al șaselea s-a arătat că a fost anulat, așa încât factorul XIV este de fapt al XIII-lea. Pe lângă acești factori ai coagularii plasmactice sau tisulari, desemnați prin cifre române, se cunosc încă nouă factori plachetari, desemnați prin cifre arabe. Și într-un caz și în celălalt numerotarea lor nu indică ordinea în care ei intră în procesul de coagulare, ci numai ordinea cronologică a descoperirii lor. Cei nouă factori plachetari considerați astăzi sînt:  $F_p1$ , care ia parte la conversiunea protrombinei în trombină;  $F_p2$  care este implicat în transformarea fibrinogenului în fibrină;  $F_p3$  (PTF) este un fosfolipid plachetar implicat în formarea protrombinazei;  $F_p4$  — sau antiheparina;  $F_p5$  sau serotonină;  $F_p6$  — sau fibrinogenul plachetar;  $F_p7$  — sau trombostenina;  $F_p8$  sau antifibrinolizina plachetară;  $F_p9$  — sau factorul stabilizant al fibrinei.

**Mecanismul coagularii.** Acesta se desfășoară pe două căi ce se deosebesc după originea tisulară sau sanguină a factorului de declanșare a procesului „în cascade”. **Calea extrinsecă**, scurtă, cu durată de ordinul secundelor, reactualizează de fapt schema lui Morawitz. Factorul de declanșare îl constituie suc celular eliberat din celulele țesutului lezat. Are două etape importante: generarea protrombinazei și producerea trombinei. În acest mecanism intervin: ionii de  $Ca^{++}$ , factorul III — tromboplastina tisulară sau trombokinaza, proconvertina (factorul VII) care nu intervine decît pe această cale extrinsecă. Trombina acționează asupra fibrinogenului transformîndu-l în fibrină. Fibrina formată în această fază este foarte fragilă.

**Calea intrinsecă.** Pe această cale — mai lentă — a cărei durată este de ordinul minutelor, intervin opt factori. Calea intrinsecă se desfășoară în patru etape eșalonate astfel: (a) generarea protrombinazei; (b) producerea trombinei; (c) transformarea fibrinogenului în fibrină, cu stabilizarea acestuia; (d) sinereza și retracția cheagului. În calea intrinsecă sînt implicați numai factorii sanguini. Procesul este declanșat prin activarea factorului XII, ca urmare a fenomenului de suprafață, de hemosorbție, pe care-l suferă acest factor de contact la nivelul leziunii vasculare; „in vivo”, iar „in vitro” prin contactul cu orice suprafață de sticlă sau metal. Au loc interacții electrostatice, deplasări de electroni între suprafața de contact și factorul în cauză. Se declanșează o avalanșă de activări în trepte, redată în fig. XIV.22. Urmează apoi elivarea fibrinogenului cu producerea polimerului de fibrină instabilă, trecut în formă stabilă prin acțiunea factorului XIII. Cheagul format din fibrină nestabilizată este solubil în soluții de uree 5 M, ce determină ruptura

## SISTEM INTRINSEC (cale intrinsecă)

## SISTEM EXTRINSEC (cale extrinsecă)

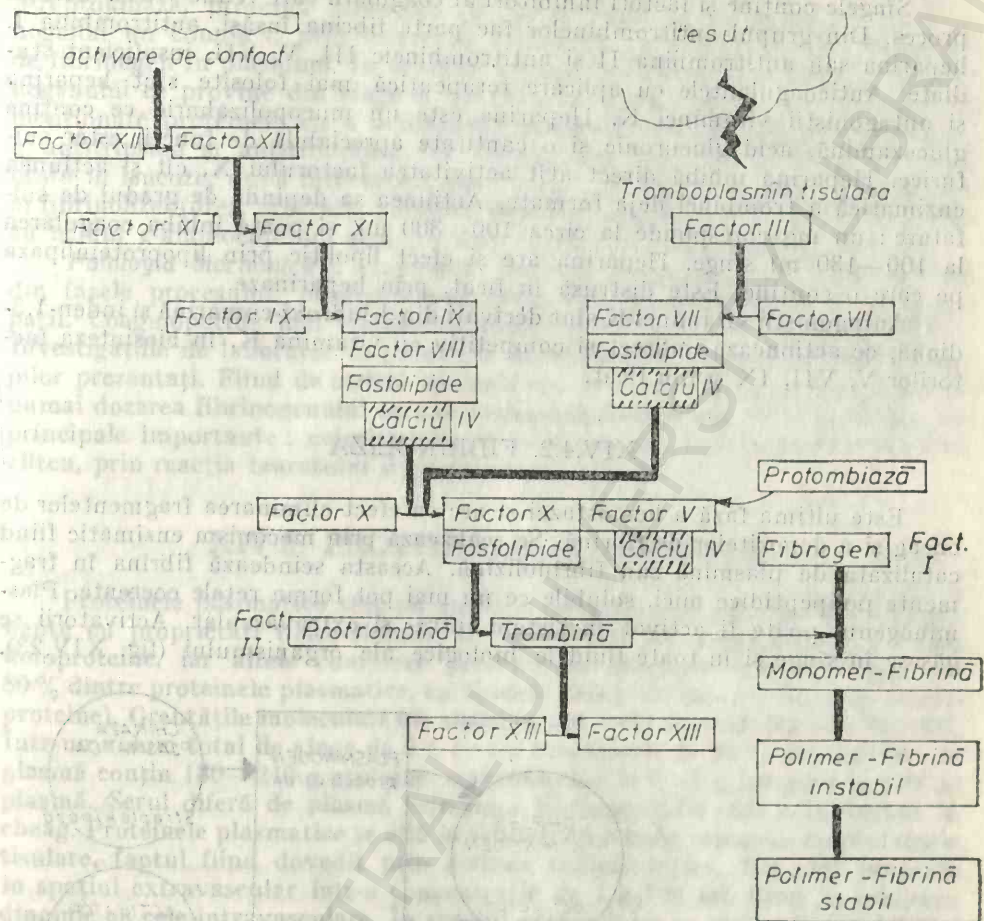


Fig. XIV.22 — Schema coagulării; a) cale intrinsecă; b) cale extrinsecă.

punților de hidrogen. Factorul XIII stabilizează fibrina, făcând-o insolubilă prin constituirea unei punți disulfurice între glicina terminală a unui monomer și gruparea  $\text{NH}_2$  de pe monomerul vecin. Urmează apoi sinereza cheagului prin expulzarea apei din ochiurile-gelului, cu micșorarea spațiului dintre fibrele. Retracția cheagului se produce numai în prezența trombocitelor, funcțional normale, ce acționează prin trombostenina contractilă ( $\text{F}_1$  plachetară). În punctele nodale ale rețelei de fibrină plachetele funcționează ca centrii mecanici și energetici ai retracției cheagului. Ele se lipește de filamentele de fibrină și prin descompunerea moleculelor macroergice ATP asigură contracția trombosteninei care antrenează micșorarea în sens longitudinal a fibrelor de fibrină, ce sint aduse pasiv la acest rezultat.



#### XIV.4.1.1. Inhibitori ai coagulării

Sîngele conține și factori inhibitori ai coagulării care reduc viteza acestui proces. Din grupul antitrombinelor fac parte fibrina însăși, antitrombina I, heparina sau antitrombina II și antitrombinele III, V, VII, insuficient studiate. Anticoagulantele cu aplicare terapeutică mai folosite sînt heparina și antagoniștii vitaminei K. Heparina este un mucopolizaharid ce conține glucozamină, acid glucuronic și o cantitate apreciabilă de funcții ester sulfurice. Heparina inhibă direct alit activitatea factorului X, cit și acțiunea enzimatică a trombinei deja formate. Acțiunea sa depinde de gradul de sulfatare : un mg corespunde la circa 100—300 u.i. și poate inhiba coagularea la 100—130 ml sînge. Heparina are și efect lipolitic prin lipoproteinlipaza pe care o conține. Este distrusă în ficat, prin heparinaze.

Antagoniștii vitaminei K sînt derivați din 4-hidroxi-cumarină și inden-1,3-dionă, ce acționează indirect și competitiv cu vitamina K, în biosinteza factorilor V, VII, IX și din ficat.

#### XIV.4.2. FIBRINOLIZA

Este ultima fază a hemostazei și are ca efect eliminarea fragmentelor de cheag și a depozitelor de fibrină. Se realizează prin mecanism enzimatic fiind catalizată de plasmină sau fibrinolizină. Aceasta scindează fibrina în fragmente polipeptidice mici, solubile ce nu mai pot forma rețele coerente. Plasminogenul poate fi activat în sistem intra- și extravascular. Activatorii se găsesc în sînge și în toate fluidele biologice ale organismului (fig. XIV.23).

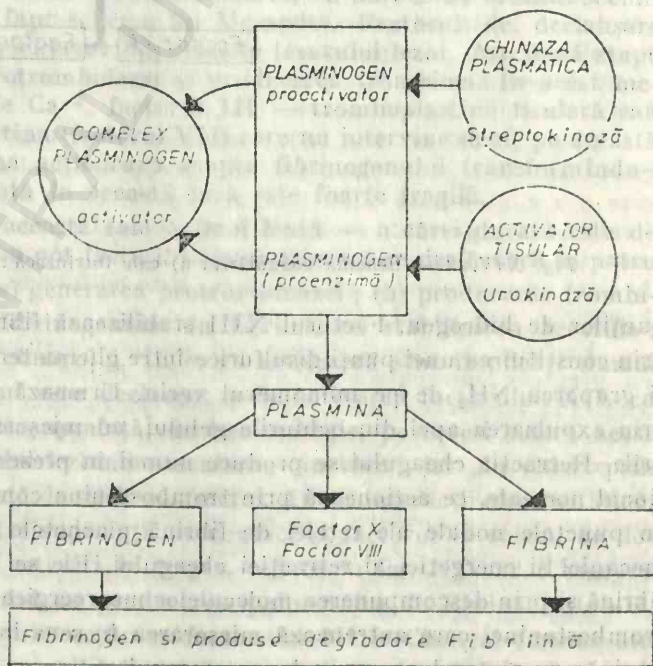


Fig. XIV.23 — Schema fibrinolizei.

Produsele secundare ale fibrinolizei inhibă formarea trombinei și polimerizarea monomerilor de fibrină. Plasminogenul poate fi activat sau inhibat. Streptokinaza, proteină streptococică neenzimatică, formează cu plasminogenul un complex, prin interacții hidrofobe, care transformă moleculele de fibrinogen în plasmină. În urină se găsește urokinaza, activator al plasminogenului ce provine din sânge și țesuturi. Ca inhibitori ai procesului pot fi menționate proteinele cu o activitate antiplasminică, ca  $\alpha_2$ -macroglobulina,  $\alpha_2$ -antitripsina și antitrombina III. Fibrinoliza patologică crescută se întâlnește în leucoze, după intervenții chirurgicale pe organe bogate în activatori ai fibrinolizei (uter, prostată, plămîn). Poate fi inhibată prin antifibrinolitice cu acidul  $\epsilon$ -aminocaproic, acid p-aminometilbenzoic sau trasilol.

*Patologia biochimică a coagulării.* Această patologie poate privi fiecare din fazele procesului, producându-se vazopatii, trombocitopatii și coagulopatii. Coagulopatiile mai cunoscute, sînt redată în esență în tabel XIV.1. Investigațiile de laborator în patologia hemostazei se adresează tuturor timpilor prezentați. Fiind de strictă specialitate, în acest capitol se menționează numai dozarea fibrinogenului care se realizează în laborator prin trei variante principale importante: colorimetrie pe baza reacției cu reactivul Folin-Ciocalteu, prin reacția biuretului și gravimetric.

## XIV.5. PROTEINELE PLASMATICE

Proteinele plasmatice sînt un amestec heterogen de aproape 100 componente cu proprietăți fizico-chimice și funcții diferite. Unele dintre ele sînt holoproteine, iar altele complexe proteice cu glucidele (glicoproteine) cca 80% dintre proteinele plasmatice, cu lipidele (lipoproteine), cu metalele (metalproteine). Greutățile moleculare ale acestora pot varia între 60 000 și 1 300 000. Într-un volum total de sânge de 5 l, cu un hematocrit de 40%, cei trei litri de plasmă conțin 180—240 g proteine, corespunzînd la 6—8 g proteine la 100 ml plasmă. Serul diferă de plasmă prin lipsa fibrinogenului care este reținut în cheag. Proteinele plasmatice se află în schimb metabolic continuu cu proteinele tisulare, faptul fiind dovedit prin metode radioizotopice. Ele sînt prezente în spațiul extravascular într-o concentrație de 1 g/100 ml, fiind în echilibru dinamic cu cele intravasculare. În spațiul extracelular se găsesc în total 400 g proteine. Sînt sintetizate preponderent în ficat și în țesutul SRH (limfocite, plasmocite). Informația genetică pentru biosinteza lor este, ca de altfel pentru toate proteinele, conținută în ADN-ul din nucleul celulelor formatoare, ce codifică fiecare aminoacid prin triplețul corespunzător lui. Cu cele patru baze pirimidinice și purinice (adenină, guanină, timină, citozină) se formează  $4^3$  adică 64 de tripleți diferiți. Procesul de sinteză se desfășoară în modul arătat la sinteza proteinelor (Cap. VI).

### XIV.5.1. FUNCȚIILE PROTEINELOR PLASMATICE

Importantele funcții pe care proteinele plasmatice le au de îndeplinit, sînt următoarele:

— mențin volumul normal și presiunea coloid osmotică a singelui, precum și schimburile dintre capilare și țesuturi. Albuminele sînt preponderent răspunzătoare de această funcție;



— transportă hormoni, metale, lipide, vitamine, pigmenți, coloranți, medicamente, dispunând de o suprafață totală de circa 700 000 mm<sup>2</sup>;

— participă la procesele de apărare specifică și nespecifică a organismului prin: imunoglobuline, sistemul complement, properdină, lizozim, transferină, precum și fenomenele de coagulare și fibrinoliză prin factorii prezentați mai înainte;

— participă la menținerea echilibrului acido-bazic al singelui, ca sistem tampon, datorită caracterului lor amfoter;

— influențează vîscozitatea și microcirculația, contribuind la realizarea unui mediu protector pentru eritrocite și favorizîndu-le mobilitatea;

— reprezintă o rezervă proteică importantă în situațiile în care aportul proteic scade.

Aceste funcții sînt dezvoltate odată cu prezentarea fiecărei fracțiuni în parte sau încadrate în ansamblul fenomenelor sau sistemelor la care participă (echilibrul acido-bazic, biochimia răspunsului imun, homeostazia coagulării).

#### XIV.5.2. METODE DE DOZARE, SEPARARE ȘI CARACTERIZARE ALE PROTEINELOR PLASMATICE

În principiu, se folosesc aceleași metode care se pot aplica dozării proteinelor, în general. Ele se bazează pe proprietățile fizico-chimice caracteristice acestui grup de substanțe: solubilitate, masă moleculară, polaritate electrică, reactivitate chimică.

##### XIV.5.2.1. Metode de dozare

**METODELE FOTOCOLORIMETRICE** sînt cele mai răspîndite. Dintre ele, se aplică curent două și anume cea bazată pe reacția biuretului (Weichselbaum, Gornall) și reacția Lowry.

Reacția biuretului se bazează pe formarea complexului colorat în violet-purpur, pe care legăturile peptidice îl formează cu reactivul alcalin cuprotartric (reactivul biuretului). Reacția Lowry folosește, în completare față de reacția biuretului, reactivul fenolic Folin-Ciocalteu. Metoda se bazează pe reducerea reactivului fosfomolibdotungstic de către tirozina și triptofanul din constituția proteinei respective. Metoda Lowry se aplică cu succes în medii hipoproteice.

**Metodele bazate pe absorbție în UV**, între 210—280 nm. La 280 nm absorbția este datorată, în special, tirozinei și triptofanului din proteine. La 210 nm absorbția este direct proporțională cu concentrația lanțurilor peptidice. Aceste metode sînt recomandabile pentru măsurători continue, cerute în aplicarea procedeelor cromatografice de separare (pe coloane cu schimbători de ioni).

**Metodele imunochimice** (Mancini, Carbonara, Heremans) sînt bazate pe imunodifuzie radială cu anticorpul specific inclus în geloză. Aprecierea cantitativă a proteinei precipitată în disc prin anticorpul său specific se face prin măsurarea diametrului discului de precipitare, cu exprimarea în miligrame la % sau în u.i. de proteine.

Valorile normale ale proteinemiei la adulți sînt cuprinse între 6,7—8,7 g în 100 ml plasmă. La nou-născuți : 5,0—6,5 g/100 ml plasmă.

*Metodele bazate pe alte proprietăți fizice :*

— metodele refractometrice au la bază relația dintre indicele de refracție al serului și concentrația proteinelor plasmatice. Valorile normale prin această metodă sînt mai ridicate în raport cu celelalte metode.

— metodele densimetrice (metoda Philips și van Slyke) sînt bazate pe măsurarea densității picăturilor de ser, lăsate să cadă într-o soluție de sulfat de cupru de concentrație (și deci densitate) crescîndă. Metoda este interesantă pentru aplicare în condiții de utilare minimă.

#### XIV.5.2.2. Metode de separare și caracterizare

*Metodele electroforetice* sînt aplicate cu succes pe scară largă pentru studiul amestecului de proteine plasmatice. Dintre cele două variante principale se utilizează mai ales electroforeza liberă sau frontală (Tiselius 1955) și electroforeza de zonă. Aceasta din urmă s-a dovedit deosebit de utilă în investigațiile medicale.

a) *Electroforeza de zonă.* Viteza de migrare a particulelor (în cazul acesta, macromoleculele proteice) într-un câmp electric este exprimată prin relația :

$$V = \frac{Q \times H}{6\pi\eta r}$$

în care :

$6\pi\eta r$  = măsură a rezistenței prin frecare interioară (viscozitate) a particulelor de rază  $r$  ;

$Q$  = încărcătura electrică a particulei ; este dependentă de  $pH$ -ul tamponului ;

$H$  = tăria cîmpului electric.

b) *Electroforeza pe hîrtie.* A fost varianta cea mai practică, deși în perspectivă se conturează înlocuirea hîrtiei cu foliile de acetat de celuloză.

În tabelul XIV.2 sînt redate valorile procentuale ale proteinelor plasmatice separate prin electroforeză de zonă\*.

Tabelul XIV.2

Valori procentuale ale proteinelor plasmatice separate prin electroforeză de zonă

Fracțiunea	Procent relativ		Concentrație absolută în g/100 ml ser, cu 7 g proteine totale
	medie	limite	
Albumine	60	55—70	3,50—4,50
$\alpha_1$ -globuline	4	2—5	0,14—0,35
$\alpha_2$ -globuline	8	5—10	0,35—0,70
$\beta$ -globuline	12	10—15	0,70—1,05
$\gamma$ -globuline	16	12—20	0,84—1,40

\* Valorile diferă într-o anumită măsură în funcție de natura suportului și procedeuul de colorare.



c) *Electroforeza pe foi de acetat de celuloză*. Acestea sînt un suport mai omogen decît hîrtia și separarea proteinelor poate fi făcută rapid cu folosirea unui volum foarte mic de ser (electroforeză de „microzonă“). Deși numărul fracțiunilor separate este același cu cel obținut pe hîrtie, procentajele reprezentînd concentrația fracțiunilor proteice, sînt diferite de cele obținute pe hîrtie și amîndouă se deosebesc de cele obținute prin electroforeza liberă (vezi datele medii în tabel).

d) *Electroforeza în gel de agar sau în agaroză* (agar transformat prin îndepărtarea grupărilor sulfurice și a celei carboxilate). Agarul reprezintă un mediu bun, folosit din ce în ce mai mult pentru separarea proteinelor plasmatice urmată de colorare și evaluare procentuală a fracțiunilor prin integrare. Agaroză este mediul preferențial folosit pentru separarea lipoproteinelor.

Imunoelectroforeza (Grabar și Williams) constă din asocierea electroforezei în geloză cu imunodifuzia radială. Se folosesc anticorpi precipitanți polivalenți sau mai ales monovalenți (monospecfici).

Rezoluția obținută prin imunoelectroforeză a permis identificarea a 30 de fracțiuni proteice plasmatice și precizări prețioase privind sistemul gamaglobulinei IgG, IgA, IgM, IgD, IgE (fig. XIV.24). Marcarea anticorpilor cu radioizotopi sau cu enzime a adus un progres tehnic considerabil pentru dozările de antigene biologice în concentrații foarte mici. Marcarea anticorpilor cu enzime a dus la aplicarea așa-numitelor sisteme EISA (enzyme-immuno-sorbent ASSAY) și ELISA (enzyme-linked-immuno-sorbent ASSAY).

e) *Electroforeza în geluri cu efect de „sită moleculară“*, ca gelul de amidon și de poliacrilamidă, a adus contribuții importante la studiul proteinelor plasmatice. În aceste geluri separarea se realizează nu numai în funcție de sarcina electrică a particulei electrice, ci se asociază și cu o fracționare în funcție de dimensiunea moleculară aflată în raport cu diametrul porilor din gel. Studiul heterogenității protein-izoenzyme, haptoglobine, transferine etc. — beneficiază de aplicarea electroforezei în gel de amidon. Gelul de amidon întîrzie migrarea electroforetică a proteinelor cu o greutate moleculară de 50 000 ( $\alpha_2$ -macroglobuline). Detalii tehnice se găsesc în cărțile de metodologie și în special, în lucrările lui Smiethis.

f) *Electroforeza în gel de poliacrilamidă*, cu varianta sa cea mai aplicată „electroforeza în disc“ a permis o rezoluție foarte fină a fracțiunilor proteice studiate (fig. XIV.25).

g) Variantele mai noi metodologice ca *focalizarea izoelectrică* (isoelectric focusing) și *izotahforeza* nu au încă aplicare curentă. Combinația între electroforeză și cromatografie — electrocromatografia — a permis studiul „amprentelor peptidice“, obținute prin hidroliza proteinelor (metoda „finger printing“ a lui Ingram.

*Metodele cromatografice* au aplicare pe scară largă și sînt realizate sub formă de separări pe coloane de DEAE celuloză, sau filtrare în gel de sephadex. Mai recent, ele sînt utilizate sub formă de cromatografie de afinitate ce permite aprofundarea investigațiilor referitoare la proteinele plasmatice și alte proteine cu activitate biologic-specifică.

*Ultracentrifugarea* (Svedberg) a permis caracterizarea proteinelor plasmatice prin constanta lor de sedimentare.

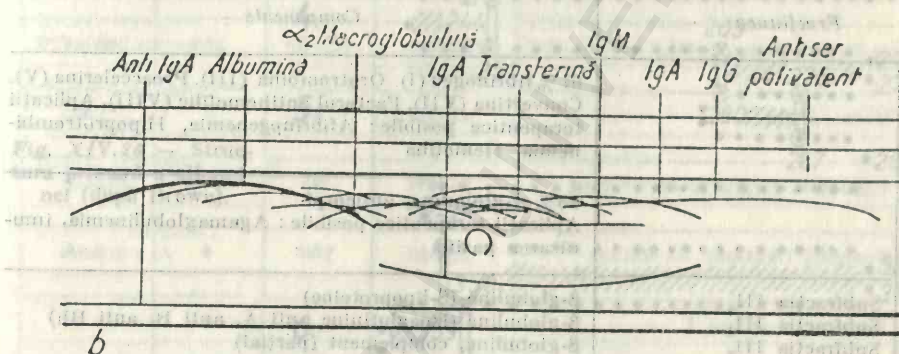
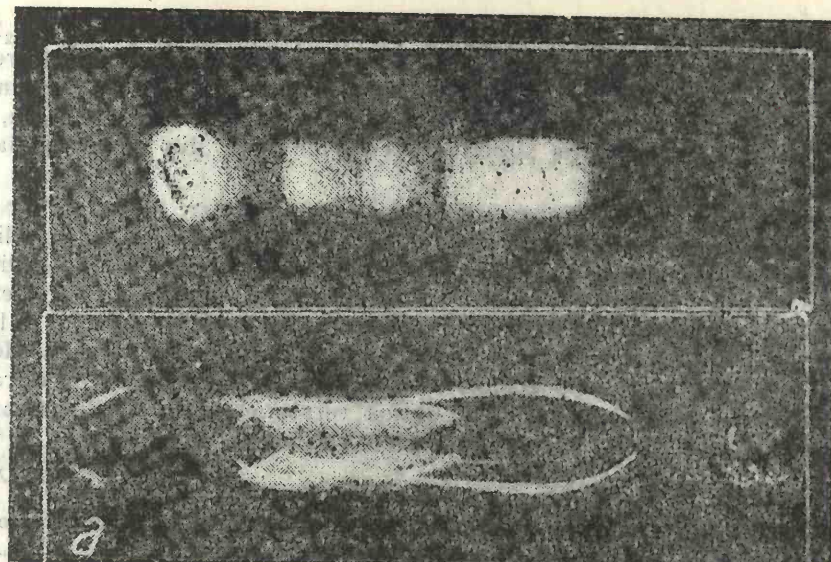


Fig. XIV.24 — Imunoelectroforeza proteinelor plasmatice (fotografie).

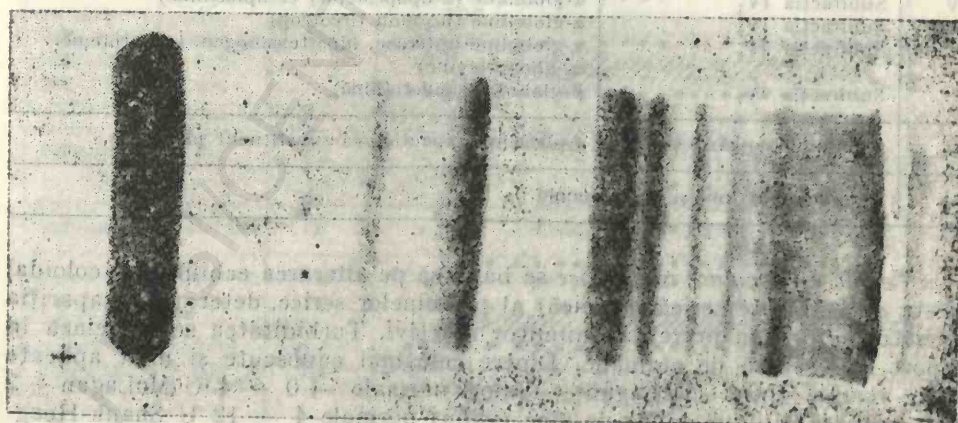


Fig. XIV.25 — Electroforeza proteinelor plasmatice in gel de poliacrilamida.



*Precipitarea cu soluții saline* s-a aplicat cu următoarele săruri:  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ , amestec de fosfați mono- și dipotasiici și mai ales prin utilizare de  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Toate aceste săruri se folosesc și pentru purificarea proteinelor plasmatiche. Globulinele precipită la semisaturare în sulfat de amoniu, iar albuminele la o concentrație superioară celei de 50% din concentrația de saturare.

*Separarea prin solvenți organici, la rece* (acetonă, eter, metanol, dar mai cu seamă etanol) a condus la precizarea metodei Cohn a cărei aplicabilitate are o deosebit de mare importanță practică. Scăderea selectivă a solubilității proteinelor prin variate concentrații de alcool, tărie ionică și pH au permis separarea a cinci fracțiuni prezentate cu conținutul lor în tabelul XIV.3. Pentru aprofundarea datelor de structură, ca pentru orice proteine, se determină secvențialitatea aminoacizilor, se aplică analiza spectrelor de difracție cu raze X, se cercetează dispersia optică rotatorie și dicroismul circular.

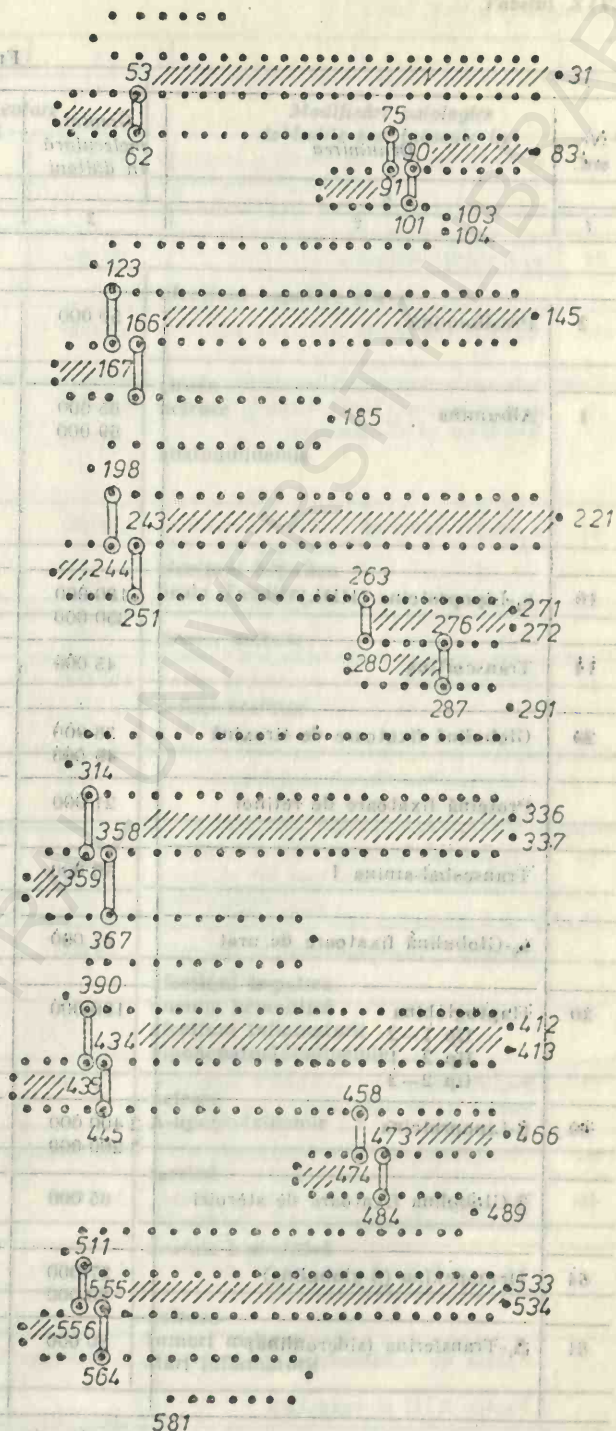
Tabelul XIV.3

Fracțiunile proteice plasmatiche separate prin metoda Cohn (cu etanol, la rece)

Fracțiunea		Componente
I		61% fibrinogen (I). Orotrombina (III). Proaccelerina (V). Convertina (VII). Factorul antihemofilic (VIII). Aplicații terapeutice posibile: Afibrinogenemia, Hipoprotrombinemia, Hemofilia
II		98% $\gamma$ -globuline, anticorpi Aplicații terapeutice posibile: Agamaglobulinemia, imunizarea pasivă
III	Subfracția III <sub>0</sub> Subfracția III <sub>1</sub> Subfracția III <sub>2</sub> Subfracția III <sub>3</sub>	$\beta$ -globuline ( $\beta$ -lipoproteine) $\beta$ -globuline (izoglutinine anti A, anti B, anti Rh) $\beta$ -globuline, complement (parțial) $\beta$ -globuline, $\alpha$ -globuline (plasminogen)
IV	Subfracția IV <sub>1</sub> Subfracția IV <sub>4</sub> Subfracția IV <sub>6</sub>  Subfracția IV <sub>7</sub>	$\alpha$ -globuline ( $\alpha$ -lipoproteine, ceruplasmină) $\alpha$ -globuline (hormon tireotrop) $\alpha$ -globuline (esteraze, hipertensinogen, iodoproteine, $\alpha_2$ -glicoproteine) $\beta$ -globuline (siderofilină)
V	Albumină serică	Aplicații terapeutice ca substituent plasmatic
VI	Preponderent ioni și orozomucoid	

*Testele de floculare nespecifice* se bazează pe alterarea echilibrului coloidal (teste de lăbilitate serică proteică) al proteinelor serice, determinând apariția unei turbidități în prezența anumitor reactivi. Turbiditatea se apreciază în raport cu o scară de etaloane. Dintre cele mai cunoscute și mult aplicate sînt: reacția timol (McLagan — valori normale — 0 — 4 U McLagan  $\pm$  2 DS); reacția Kunkel sulfat de zinc (valori normale 4 — 12 U Shank-Hoagland  $\pm$  2 DS) și reacția Takata-Ară simplificată, varianta cu folosirea unui

Fig. XIV.26 — Structura primară a albuminei (după Brown).





# Fracțiunile proteice plasmatice

Nr. ord.	Denumirea	Greutate moleculară în daltoni	Peptide %	Concentrația plasmică mg. %	
				medie	limite
1	2	3	4	5	6
1. Proteine					
2	Prealbumină	50 000	99	25	10—40
1	Albumina	65 000 69 000	100	4 400	3 500 5 500
10	$\alpha_1$ -Lipoproteina (HDL)	180 000 350 000	42—55	360	200—770
14	Transcortina	45 000	80	7	R
29	Globulină fixatoare de tiroxină	36 000 45 000	85	1—2	—
	Proteină fixatoare de retinol	21 000	100	4	3—6
	Transcobal-amina I	56 000	—	—	—
	$\alpha_2$ -Globulină fixatoare de urat	67 000	88	—	—
30	Haptoglobina tip 1—2 tip 2—1 tip 2—2	100 000	81	170 235 190	100—200 160—300 120—260
60	$\beta$ -Lipoproteina	2 400 000 3 200 000	22	400	300—700
	$\beta$ -Globulină fixatoare de steroizi	65 000	88	—	0,1—1,5
64	Hemopexina ( $\beta$ -globulina)	57 000 80 000	77	75	50—115
61	$\beta_2$ -Transferina (siderofilina)	80 000	95	205	200—400

\* Numărul de ordine corespunde clasificăiei Schultze-Heremans.

## clasificate pe funcțiuni

Funcțiuni biologice particulare și alte caracteristici	Modificări patologice dobândite sau înăscute în:
7	8
<i>de transport</i>	
fixare, transport tiroxina retinolul	afecțiuni hepatice grave
fixare, transport acizi grași pigmenți ioni medicamente; presiune coloid-osmotică rezervă proteică	ciroze nefroze analbuminemie
fixare, transport lipide, hormoni	afecțiuni hepatice boala Tangier
fixare, transport; cortizol	ciroze, nefroze
fixare, transport; tiroxina	deficit ereditar
fixare, transport; vitamina A	
fixare, transport; cobalamina (vitamina B <sub>12</sub> )	
fixare, transport; urat	
combinat cu HGB proprietăți peroxidazice	afecțiuni hepatice anemie hemolitică afecțiuni inflamatorii hipohepatoglobulinemie
fixare, transport; lipide	nefroze A-lipoproteinemie
fixare, transport; 17-hidroxizi-steroidi	sarcină
fixare, transport; hemul	anemie hemolitică
fixare, transport; fier	nefroze tumori maligne stări inflamatorii



1	2	3	4	5	6
<b>II. Inhibitori</b>					
12	$\alpha_1$ -Antitripsina	54 000	87	290	200—400
22	$\alpha_1$ -Antichimotripsina	68 000	73	45	30—60
	Antritrombina III	65 000	85	23	17—30
37	$\alpha_2$ -Neuramino-glicoproteina (inhibitor al Cl-esterazei)	104 000	57	24	15—30
33	$\alpha_2$ -Macroglobulină	820 000	92	240	150—400
<b>III.</b>					
31	Ceruloplasmine	132 000	89	35	15—60
	Componentul Cls al complemen- tului (Cl-esteraza)	86 200	—	3	2—4
32	Pseudocolinesteraza	348 000	78	1	0,5—1,5
	Lizozim (muramidaza)	15 000	100	—	0,07—0,20
<b>IV. Factorii coagulării</b>					
	Protrombine Factor II al coagulării	72 000	—	—	5—10
81	Plasminogen (Profibrinolizina)	81 000	—	12	6—25
80	Fibrinogen Factor I al coagulării	341 000	97	300	200—450
	Antigen AHG Factor VIII al coagulării	1—2 mil.	—	—	1
	Factor de stabilizare al fibrinei	340 000	95	—	1—4
	Factor XIII al coagulării				(fracțiunea S)

Tabel XIV.4 (continuare)

7	8
<i>enzimulici</i>	
inhibare : proteaze (tripsină, chimotripsină)	afecțiuni inflamatorii hipo-a-antitripsinemie la emfizem prematur
inhibare : chimotripsina	
inhibare : Trombina	afecțiuni hepatice, după contraceptive orale
inhibare : C.Ir C. Is al plasmogenului, al calicreinei, al factorului XII	edem angioneurotic
inhibare : proteaze (plasmină)	sindrom nefrotic afecțiuni hepatice diabet
<i>Enzime</i>	
proprietăți oxidazice	boala Wilson neoplazie sarcină
esteraza	
scindarea esterilor colinei	afecțiuni hepatice, afecțiuni de nutriție, diabet, nefroză, hiperlipimie
bacterioliză	leucemie monocitară nefropatii
<i>și fibrinolizei</i>	
profactor al trombinei	afecțiuni hepatice, tratament anticoagulant
proenzimă a plasminei (proactivator)	fibrinolize
proteină coagulabilă	leziuni hepatice hiperfibrinolize, afibrinogenemie
transport Factor VIII Factor Willebrand	sindrom Willebrand-Jurgens
polimerizarea fibrinei (transamidază)	întârzieri de cicatrizare



1	2	3	4	5	6
V. Constituenți					
	Constituent C.9	79 000	—	4.5	2—7
	Constituent C.1 r	150 000	—	10	—
	Constituent C.2	117 000	—	—	1—3
	Constituent C.3 ( $\beta_1$ -C-Globulină)	185 000	97	82	55—120
	Constituent C.4 ( $\beta_1$ -E-Globulină)	230 000	—	30	20—50
	Constituent C.5 ( $\beta_1$ -F-Globulină)	200 000	81	8	4—15
	Constituent C.3 proactivator (factor B-properdină)	80 000	89	18	10—40
	Constituent C.1 q	400 000	90	10	10—25
	Constituent C.6	95 000	—	—	1—7
	Constituent C.7	100 000	—	—	—
	Constituent C.8	153 000	—	—	—
	Properdina	184 000	—	—	—

VI. Imune					
90	IgG ( $\gamma$ G-; $\gamma_2$ -7S-y-globuline)	150 000	97	1 250	800—1 800
	IgA ( $\gamma$ A-; $\gamma_1$ -A-, b <sub>2</sub> A-globuline)	160 000 și polimeri	92	210	90—450
91	IgM ( $\gamma$ M-; $\beta_2$ M-, 19 S- $\gamma$ -globuline)	900 000	89	150	60—250
93	IgD-(D-globuline)	170 000	88	—	—
	IgE (E-globuline)	190 000	89	—	—

7	8
<b>complementului</b>	
activ în sistemul complement	
activ în sistemul complement	boli autoimune deficit ereditar C <sub>2</sub>
activ în sistemul complement	boli autoimune (glomerulonefrite, lupus eritematos)
convertit în ser în C <sub>3</sub> a (anafilatoxină) C <sub>3</sub> c (β <sub>1</sub> -A-globulină) C <sub>4</sub> d (α <sub>2</sub> -D-globulină)	lupus eritematos
activ în sistemul complement	
convertit în ser în C <sub>5</sub> a 6-anafilatoxină	
proenzimă a activatorului C <sub>3</sub> (β <sub>2</sub> -glicoproteină 11)	
fracțiunea C <sub>1</sub>	lupus eritematos
activ în sistemul complement	
activ în sistemul complement	
activ în sistemul complement	
activarea complementului (calea alternă)	
<b>globuline</b>	
anticorp	afecțiuni hepatice infecții cronice mielome sindrom carență anticorpi
anticorpi în special în secreții	ciroze infecții cronice mielome sindrom carență anticorpi ataxie-telangiectazie
anticorpi (izoaglutinine)	infecții cronice (tripanosomiază etc.) macroglobulinemia lui Walden-Ström afecțiuni hepatice; mielom sindrom carență anticorpi
anticorpi	mielom
anticorpi (reagine)	mielom boli alergice parazitoze



singur tub, aprecierea făcându-se în valori de transmisie sau turbiditate (valori normale în procente de transmisie 100%—80%). Reacțiile cu sulfat de zinc și Takata-Ara sînt indicatori ai creșterii gamaglobulinelor plasmatică permițînd într-o anumită măsură triajul socilităților de electroforeză pe hîrtie în seruri în care se bănuiește creșterea gamaglobulinelor. În mecanismul pozitivării reacției timol din sistemul gama pare să intervină numai IgM; sînt implicate în mod special, fracțiunile  $\beta$  și  $\alpha_2$ -globulina alcalină. Precipitatul obținut din ser cu reacție timol pozitivă este foarte bogat în fosfatide.

#### XIV.5.3. PRINCIPALELE PROTEINE PLASMATICE

Acestea sînt redată cu caracteristicile lor funcționale specifice obținute prin combinarea metodelor prezentate, în tabelul XIV.4.

Din totalul acestor fracțiuni o parte — imunoglobulinele, factorii de apărare nespecifică, cit și factorii coagulării — sînt prezentate separat.

În tabel nu au fost încadrate unele componente prezente în ser, în concentrații încă necunoscute precis la normali, dar care au totuși o importanță biologică și anume:

*Gc-globulina* sau componentul specific de grup sanguin, glicoproteina în greutate moleculară de 50 000 daltoni și concentrație serică de 40 ng% — valoare medie. Ea scade în afecțiunile hepatice grave.

*Eritropoietina* în greutate moleculară de 30 000 daltoni cu implicații în hematopoieză.

*Proteina C reactivă* în greutate moleculară 135 000—140 000 daltoni, prezentă în ser sub 1—2 mg %, cu creșteri foarte mari în stările inflamatorii acute. Prezența sa favorizează fagocitoza.

$\beta_2$ -glicoproteina cu greutate moleculară 40 000 daltoni, avînd concentrația serică medie 20 mg%; se cunoaște deficitul familial de  $\beta_2$ -glicoproteine.

$\beta_2$ -microglobulinele cu greutate moleculară de 11 600 daltoni avînd concentrația serică de 0,15 mg%, sînt din ce în ce mai cercetate pentru implicațiile pe care le au în sistemul de histocompatibilitate majoră și pentru variațiile semnificative pe care le înregistrează în patologia renală.

În cele ce urmează vor fi prezentate principalele proteine plasmatică despre care nu s-au făcut anterior menționări speciale.

##### XIV. 5.3.1. Albumina

Este o componentă majoră a proteinelor plasmatică, reprezentînd procentual 55—60% din totalul lor. Nivelul său plasmatic la normal este cuprins între 3,5 g și 4,5 g%; molecula are formă elipsoidală, greutate moleculară 65 000—69 000 daltoni și T/2 17—27 de zile. Serumaalbumina este sintetizată în ficat; producția zilnică de 120—150 mg/kilocorp. În urma lucrărilor lui Brown s-au definitivat datele structurale asupra acestei albumine. Ea are cel mai lung lanț peptidic cunoscut, fiind alcătuit din peste 580 aminoacizi. Dintre aceștia predomină: acidul glutamic (83 resturi), acidul aspartic (55 resturi), lizină (59 resturi), valină (46 resturi), leucină (73 resturi). Aminoacidul N-terminal este acidul aspartic, iar în C-terminal este leucina. Albumina serică este alcătuită dintr-o serie de nouă ochiuri de rețea închise de punți disulfurice (fig. XIV.26), posedă și un grup — tiol liber ce permite formarea

complexelor cu metale ca : Hg, Zn, Ag, Cu. Ochiurile acestea de rețea se asociază în trei domenii similare, cele duble fiind conectate între ele într-o catenă peptidică unică. Datorită unei asemenea construcții spațiale, albumina are flexibilitate cu totul remarcabilă. Deși Brown găsește analogii structurale între albumină și imunoglobulină IgG, el atrage atenția și asupra unor trăsături prin care albumina se aseamănă cu mioglobina, în special, în secvența Arg-IHis-Pro, găsită în ochiurile 3 și 6 ale albuminei și în helixul G al mioglobinei. Foarte interesantă din punct de vedere biologic-medical este omologia între ochiurile 4 și 5 ale albuminei și  $\alpha_1$ -feto-proteina ( $\alpha_1$ -globulină) produsă în cursul vieții fetale, înaintea albuminei și în ficatul adult neoplazic (hepatom primar). Prin tratare cu enzime proteolitice (tripsină, pepsină) s-au obținut fragmente ce conțin cele 9 ochiuri ale albuminei. Fragmentele își păstrează construcția și în proporție de 50% au structură  $\alpha$ -helicoidală. Albumina îndeplinește două funcții principale în plasmă : asigură — preponderent presiunea coloid-osmotică a plasmii și transportă o mare varietate de componente (ioni anorganici și organici, acizi grași, acid uric, vitamine, hormoni, coloranți, pigmenți biliari). În urma lucrărilor lui Brown s-au determinat domeniile din lanțul peptidic la nivelul cărora se leagă acizii grași și bilirubina (ochiurile 4 și 5). Tot la nivelul ochiurilor 4—5 se leagă și unii coloranți ca verdele de brom crezol utilizat într-o recentă metodă aplicată pentru dozarea colorimetrică a albuminei. Această metodă a fost introdusă de curând și în tehnicile automatizate. Competiția de legare a componentelor globulinice cu colorantul nu se face simțită în primele 6—30 secunde, ceea ce impune ca citirea să se facă imediat după contactul reactivului cu mediul ce conține albumina. În patologie se cunosc hipoalbuminemia (ciroze hepatice, nefroze). Ca anomalii genetice se cunosc abalbuminemia (rară) și bis-albuminemia (dedublare) cu caracter familial.

#### XIV.5.3.2. Glicoproteinele plasmatice

Acestea sînt componente proteice cu mobilitate electroforetică  $\alpha$ ,  $\beta$ -globulinică, la care se adaugă imunoglobulinele din sistemul  $\gamma$ . Ele conțin proporții variate între 3—30% glucide-hexoze, hexozamine, acid sialic, fucoză, legate covalent cu lanțul protidic prin legătura de tip imino-eter (glicozil-aminil).

$\alpha_1$ -Globulinele. a) *Fracțiunea sero-mucoizilor* cu mobilitate electroforetică  $\alpha_1$ -globulinică nu poate fi precipitată prin acid tricloracetic, percloric sau sulfosalicilic ci numai prin acid fosfotungstic. Dintre seromucoizi, cel mai important este orozomucoidul Winzler sau seromucoidul perclorosolubil, sinonim cu  $\alpha_1$ -glicoproteina acidă a lui Schmid. Acesta are greutate moleculară 41 000 daltoni, componenta glucidică reprezentînd 40% din greutatea sa totală. Conține D-manoză, D-galactoză, N-acetil-glucozamină, L-fucoză și acid N-acetil-neuraminic. Este alcătuit dintr-un singur lanț peptidic cu acidul



piroglutamic ca aminoacid N-terminal și cu serina ca aminoacid C-terminal. În patologie a fost studiată creșterea orozomucoidului, în special în reumatismul poliarticular acut.

b)  $\alpha_1$ -antitripsina, glicoproteină cu greutate moleculară 53 000 daltoni, are mai multe forme moleculare, dovedind heterogenitatea sa. Proteina este inhibitor natural al proteazelor, deoarece pe lângă tripsină inhibă și chimotripsina, calicreina și plasminele. Se dozează fie imunochimic, fie prin măsurarea acțiunii inhibitoare asupra tripsinei, cu N-benzoil-arginin-paranitroanilidă ca substrat. Concentrația normală în ser este de 2—6 g/l. În patologie se cunosc creșteri provocate prin inflamații și distrugerea celulelor. Deficitul ereditar de  $\alpha_1$ -antitripsină (Laurell-Eriksson — 1963), se transmite recesiv-autosomal. Proteina este implicată în afecțiuni respiratorii și în special, în apariția emfizemului pulmonar manifestat de timpuriu. Se consideră că deficitul de antiprotează ar face ca unele țesuturi — parenchimul pulmonar de exemplu — să fie foarte sensibile la acțiunea tripsinei leucocitare, infecțiile bronho-pulmonare, determinând local un aflux de leucocite.

c)  $\alpha_1$ -fetoproteina cu greutate moleculară 65 000 daltoni se formează în ficat și tractusul intestinal. Se dozează imunologic, radioimunologic și enzimoimunologic. Normal are concentrația de 10  $\mu$ g/litru de ser. Valoarea diagnostică pentru hepatom este legată de creșteri de până la 2 mg/l. Creșterea  $\alpha_1$ -fetoproteinei în lichidul amniotic și sângele matern se produce în cazul de anencefalie și spina bifida.

$\alpha_2$ -Globulina. a)  $\alpha_2$ -macroglobulina cu greutate moleculară 725 000—850 000 este inhibitor natural al proteazelor. Se dozează imunochimic, valorile normale fiind 1,5—4,2 g/l plasmă.  $\alpha_2$  macroglobulina poate atinge nivelul de 20—30 g/l în nefroza lipoidică pură a copilului, în schimb, concentrația sa scade în artrita reumatoidă.

b) *Haptoglobinele*. Există trei fenotipuri majore de haptoglobină umană Hpl-1 ; H<sub>2</sub>-1 ; H<sub>2</sub>-2, ce se pun în evidență ușor prin electroforeză în gel de amidon, varianta verticală. Complexul hemoglobină-haptoglobină se comportă ca o peroxidază, proprietate care a condus la descoperirea haptoglobinei în 1938 (Polonowski-Jayle). Complexul H<sub>2</sub>-HGB este distrus la nivelul SRH. Legătura dintre haptoglobină (HP) și hemoglobină (HGB) se stabilește prin forță Van der Waals cu globina și nu cu hemul. Stabilirea acestei legături face să se piardă alura sigmoidală a curbei de discociere a HGB—O<sub>2</sub> și suprimă efectul Bohr asupra acesteia. Prin studiul de clivaj reductiv cu mercaptotanol și uree a diferitelor haptoglobine, cu ruperea punților disulfurice, s-au obținut două feluri de lanțuri peptidice  $\alpha$  (greutate moleculară 9 000) și  $\beta$  (greutate moleculară 42 000). Aceasta din urmă este comun tuturor tipurilor de haptoglobine. Lanțurile  $\alpha$  diferă cu tipul căreia îi aparțin. Se pot detecta lanțuri cu mobilitate electroforetică rapidă (F = fast) și lanțuri cu mobilitate electroforetică lentă (S = slow). Toate lanțurile au ca secvență N-terminal valina-leucina iar ca secvență C-terminală izoleucina-acid glutamic. Diferența între mobilitățile fracțiunilor F și S rezultă din substituția neconservativă a aminoacizilor.

Haptoglobinele sînt folosite în studii de genetică a populației. Se dozează prin imunodifuzie radială sau prin activarea capacității pseudo-peroxidazice a HGB. Valorile normale sînt cuprinse între 0,5 și 3,5 g/l. Se produc scăderi în bolile hepatice și anemii hemolitice și creșteri în inflamațiile acute, procese neoplazice, limfogranulomatoză malignă și diabet zaharat.

c) *Ceruloplasmina* (cupro-oxidaza sau fero-oxidaza) este o metalglicoproteină, cu greutate moleculară 130 000—160 000, cu mobilitate de  $\alpha_2$ -globulină. Este principalul conținător de cupru din plasmă. Molecula de ceruloplasmină are un conținut de 0,32% Cu din greutatea totală a acestei metalproteine. Fiziologie ea intervine în oxidarea  $Fe^{2+}$  la  $Fe^{3+}$ , fiind implicată în metabolismul transferinei. După Bromann, cei opt atomi de Cu din molecula de ceruloplasmină ar fi transferați către citocromoxidază, în cursul sintezei intracelulare a acesteia. S-au discutat și implicațiile ceruloplasminei în metabolismul aminelor biogene, în special, în oxidarea hidroxitriptaminei. În electroforegramă activitatea ceruloplasminei se vizualizează prin oxidarea parafenilendiaminei cu producere de compuși chinoizi sau a ionului  $Fe^{2+}$  în  $Fe^{3+}$  ca precipitat de ferocianură ferică. Din punct de vedere structural, s-ar părea că ea este un octomer, cu formula moleculară  $\alpha_4\beta_4$ , în care  $\alpha$  și  $\beta$  sînt subunități peptidice cu greutate moleculară de 17 000 daltoni, avînd ușoare diferențe de sarcină electrică. S-au descris șapte fenotipuri de ceruloplasmină. Se dozează imunochimic sau colorimetric cu parafenilendiamină, N-dimetilparafenilendiamină sau ortodianizidină ca substrat. Cea mai importantă variație patologică a sa este cunoscută în boala Wilson sau degenerescența hepato-lenticulară. Se cunosc și creșteri reactive nespecifice în procese inflamatorii și maligne, în special limfogranulomatoza malignă.

Cercetări relativ recente au reactualizat interesul pentru glicoproteinele plasmatice, corelîndu-le variația cu aceea a factorilor de risc de natură lipidică în aterogeneză. S-au semnalat în coronaropatii creșteri semnificative ale următorilor factori: haptoglobină C 3c,  $G_e$  globulină,  $G_e\alpha_1$ -glicoproteină și a activatorului  $C_3$ .

$\beta$ -globuline.  $\beta_1$ -Transferina (siderofilina) este transportorul de Fe plasmatic, cu mobilitate electroforetică de  $\beta_1$ -globulină. Conține Fe 0,13% din greutatea sa, are greutate moleculară aproximativ 89 000 daltoni. Componenta heterozaharidică este legată de cea peptidică printr-o legătură glicozilaminil. Se cunosc mai multe forme moleculare ale transferinei genetice determinate. Dintre acestea, mai cunoscute sînt trei tipuri: transferina C cea mai răspîdită la toate populațiile necolorate, transferinele de tip B ( $B_0$ ,  $B_1$ ,  $B_2$ ), electroforetic mai rapide decît forma C și transferinele D ( $D_0$ ,  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ) electroforetic mai lente, întîlnite — în special — la populațiile de culoare (neagră, galbenă). Transferinele sînt sintetizate mai ales în ficat, probabil și în splină, ganglioni limfatici și ileon. În mediu neutru transferina poate fixa doi atomi de Fe/moleculă. La situsul de legare se activează resturile tirozil, la care se adaugă, după unele cercetări și participarea a două grupări imidazol din histidină). Complexul este stabil în zona pH 7,5—10 și se disociază la pH 4. Transferina se încarcă cu Fe ionizat provenit din mucoasa intestinală sau din organele de depozitare ale metalului (ficat și alte țesuturi).



În mod normal numai 1/3 din transferină este saturată cu Fe. Nivelul normal al sideremiei corespunde acestei încărcături cu Fe a transferinei circulante. Nivelul sideremiei variază între 70—170  $\gamma$ % pentru bărbați, ca valoare medie 120  $\gamma$ %. La femei, valorile sînt cu 10% mai mici. În biochimia medicală aprecieri asupra capacității transferinei de a lega fierul sînt necesare diagnosticului și terapiei (în anemiile hipocrome, în special). În aceste cazuri este vorba de următoarele valori:

— capacitatea latentă de legare a fierului în transferină (IBC=iron binding capacity) corespunzătoare cantității de Fe necesară pentru a satura capacitatea de fixare a acestui metal pe transferină;

— capacitatea totală de legare a fierului în transferină (TIBC=total iron binding capacity) se obține prin însumarea fierului seric (sideremiei) cu valoarea capacității latente de fixare a fierului în transferină;

— coeficientul de saturație este reprezentat prin raportul  $Fe^{2+}$  seric/capacitate totală de legare a Fe avînd valoarea 40% la bărbați și 35% la femei.

Valori normale IBC:

bărbat 180—285/100 ml ser

femei 150—250/100 ml ser

Aceleași valori exprimate în micromoli sînt:

bărbați 32,24—50,15 micromoli Fe/l

femei 26,86—44,77 micromoli Fe/l

Valori normale TIBC:

bărbați 300—400 Fe/100 ml ser

femei 250—350 Fe/100 ml ser

În micromoli:

bărbați 53,73—71,9 micromoli Fe/l

femei 44,77—62,96 micromoli Fe/l.

Dozarea transferinei se face direct, imunologic (metoda Mancini) sau indirect din capacitatea totală de legare a fierului.

În tabelul XIV.5 sînt redată principalele variații patologice ale sideremiei și capacității totale de legare a Fe în transferină.

Tabel XIV.5

Variații patologice ale sideremiei

Stare patologică	Fe seric	Capacitatea totală de legare a Fe în transferină	Coeficientul de saturație al siderofilinei
Anemie feriprivă	—	++	— (10%)
Hemoragie acută	++	+	—
Anemie hemolitică	+	—	—
Anemie pernicioasă	++	—	—
Hemocromatoze	++	++	++ (cca 100%)
Hemosideroze transfuzionale	++	++	++ (cca 80%)
Hepatită icterigenă	+	normal	—

#### XIV.5.4. LIPIDELE ȘI LIPOPROTEINELE PLASMATICE

Acestea sînt substanțe insolubile în apă; lipidele polare se asociază cu anumite proteine specifice, dintre care cele mai bine cunoscute sînt lipoproteinele de transport din plasma sanguină a mamiferelor (cénapsle lipoproteice ale lui Macheboeuf). Aceste proteine conjugate iau naștere prin interacțiunile necovalente dintre lipide și lanțurile peptidice. Lipoproteinele sînt, în esență, transportori de lipide și de substanțe liposolubile. Ele conțin de obicei lipide polare și neutre, precum și colesterol liber și esterificat. Fosfolipidele care sînt molecule amfiliofile, bogate în funcții polare, servesc drept legătură între componentele neutre (steroli, steride, gliceride) și proteine. Lecitinele asociază lanțurile hidrofobe cu moleculele de colesterol, iar prin componentele polare, hidrofile — colină, acid fosforic, stabilesc legături cu funcțiile polare din proteine. Componentele hidrofile — fosfolipidele și lanțuri peptidice — sînt îndreptate către suprafața complexului lipoproteic venind în contact cu mediul apos iar componentele hidrofobe — trigliceride — sînt dirijate către interior. Fosfolipidele colinice se leagă în complexul lipoproteic atât prin legături electrostatice între funcțiile polare cu semn contrar — cit și prin interacții hidrofobe cu partea nepolară a proteinelor. Trigliceridele, steridele și colesterolul sînt legate cu lanțurile hidrofobe ale fosfolipidelor. În fig. XIV.27 este redat după Van der Heuvel, un model posibil al lipoproteinelor cu densitate mică (LDL).

Proteine  
hidratate

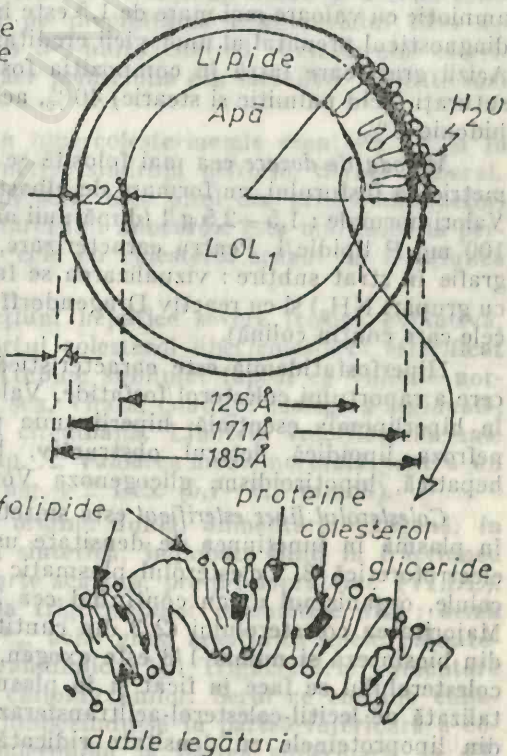


Fig. XIV.27 — Model posibil al lipoproteinelor serice (după Van den Heuvel, adaptat).



Clasificarea și compoziția lipoproteinelor plasmatice cit și dislipidemiile au fost prezentate anterior. Se reamintește că plasma conține în medie 700 ml/l sau 9,13 mol/l lipide totale, din care: fosfolipide 35%, gliceride — preponderent trigliceride — 10—25%, în medie 15,9%; colesterol liber 7,5%, colesterol esterificat 39,1% și acizi grași 2,5%.

*Dozarea lipidelor totale* în laboratorul clinic se face curent colorimetric, pe baza formării complexului de culoare fosfovanilinosulfonic. Se practică mai rar metode gravimetrice și metode bazate pe absorbția unor coloranți de către lipidele depuse pe hirtie, urmată de eluție și colorimetrare. Se vor expune mai departe date referitoare la principalele componente lipidice plasmatice, cu accentul pe metodică și valorificarea clinică a rezultatelor.

*Fosfolipidele plasmatice.* Acestea sînt preponderent fosfatidil coline (lecitine). Ele reprezintă 66% din ansamblul fosfolipidelor (vehiculate în plasmă în fracțiunea lipoproteine — HDL. În rest sînt cuprinse: sfingomieline (20%), ansamblul lizolecitine, cefaline, inozitide (10%); plasmalogene sau acetal-fosfatide (4%); fosfatidil-serină (3%). După modelul structural prezentat mai înainte, fosfatidele ar juca în plasmă un rol analog celui pe care îl au în membranele celulare. Sînt sintetizate, în special, în ficat. În a doua jumătate a sarcinii, celulele alveolare pulmonare ale fătului sintetizează fosfatide, care au rol antiatelectatic. Raportul fosfatidilcolină/sfingomielină în lichidul amniotic cu valoare mai mare de 1,5 este în prezent un indicator studiat pentru diagnosticul prenatal al unor vicii ereditare în domeniul aparatului respirator. Acizii grași care intră în compoziția fosfatidelor sînt următorii: acizi grași saturați (acid palmitic și stearic) 46%, acid oleic și palmitoleic 24%, acid arahidonic 8%.

*Metoda de dozare* cea mai folosită se bazează pe determinarea fotocolorimetrică a fosforului, cu formare de albastru de moliбden (după mineralizare). Valori normale: 1,5—2,5 g/l (după unii autori 3 g/l), corespunzînd la 60 mg—100 mg P lipidic/l. Pentru caracterizare, fosfatidele se separă prin cromatografie în strat subțire: vizualizarea se face cu ninhidrină (pentru fosfatidele cu grupări  $\text{NH}_2$ ) și cu reactiv Dragendorff-KI, nitrat de bismut,  $\text{NO}_3\text{H}$  (pentru cele care conțin colină).

Hiperfosfatidemia este caracteristică cirozei biliare, însoțită de o reducere a raportului colesterol/fosfatide. Valori crescute se întîlnesc de asemenea în hiperlipemia esențială, hiperlipemia pancreatică, diabetul zaharat sever, nefroza lipoidică, icterul obstructiv, hipercolesterolemia esențială, coma hepatică, hipotiroidism, glicogenoza Von Gierke.

*Colesterolul liber esterificat* este sintetizat principal în ficat fiind vehiculat în plasmă în funcțiunea de densitate ușoară — L.D.L. — și de mobilitate electroforetică  $\beta$ . Colesterolul plasmatic este în echilibru cu cel conținut în celule, organismul uman conținînd cea 2 g colesterol/kg greutate corporală. Majoritatea colesterolului (2/3 din cantitatea totală este endogen, provenind din biosinteză și numai 1/3 este exogen, de origine alimentară. Esterificarea colesterolului se face în ficat și în plasmă. Esterificarea plasmatică este catalizată de lecitil-colesterol-aciltransferază (LCAT), pe seama fosfatidilcolinei din lipoproteinele cu densitate ridicată (HDL). Esterii de colesterol sînt

incluși la nivelul ficatului în lipoproteinele plasmatice cu densitate mică. Acizii grași folosiți în esterificarea colesterolului sînt, în ordinea concentrațiilor procentuale din steridele respective, următorii: acid linoleic (48%), acizi oleici și palmitici (29%), acizi saturați, palmitici și stearici (19%), acid arahidonic (4%).

Metoda de dozare este bazată principal pe colorimetrie, aplicîndu-se două principii de reacție: reacția Libermann-Burchard — cu anhidridă acetică și  $H_2SO_4$  — și reacția Zak — cu clorură ferică și acid sulfuric concentrat. În prima variantă principală — cea mai practică — colesterolul dă un compus de culoare verde cu anhidrida acetică și  $H_2SO_4$ , ce poate fi stabilizat prin acid sulfosalicilic, acid para-toluen sulfonic sau acid dimetilbenzensulfonic. Reacția poate fi tulburată de apă, nitrați, bromuri, acizi biliari, bilirubină, hemoglobină. Rezultatele obținute prin reacție cu  $FeCl_3$  pot fi influențate de aceiași factori.

În ultimii ani s-a introdus o metodă enzimatică, ce se finalizează printr-o reacție de culoare (Enzimatischer Farb-Test). În acest procedeu colesterolul esterificat este hidrolizat prin colesterol-esterază. Colesterolul eliberat este oxidat prin colesteroloxidază în colesteron, cu formare de  $H_2O_2$ . Catalaza prezintă în sistem descompune  $H_2O_2$  ce oxidează metanolul adăugat, în formaldehidă. Aceasta este transformată prin acetyl-acetonă și amoniac în 3,5-diacetyl-1,4 dihidrolutidină galbenă (reacția Hantzsh).

Se poate doza colesterolul liber, esterificat și total. În practica obișnuită se dozează numai colesterolul total. Dozarea fracțiunii libere și a celei esterificate a colesterolului se bazează pe precipitarea colesterolului liber cu digitonină, cu formarea unui compus 3- $\beta$ -hidroxisteroid. Colesterolul esterificat rămîne în soluție. Dozarea se face printr-una din metodele indicate mai înainte.

Colesterolul seric total crește în hipercolesterolemia esențială cît și în hiperlipidemia esențială, icter obstructiv, sindrom nefrotic, diabet zaharat, hipotiroidism. Creșterea colesterolului seric este unul din principalii factori de risc în ateroscleroză. Incidența infarctului miocardic este mai mare la persoanele cu hipercolesterolemie și la cele cu colesterol scăzut în fracțiunea HDL.

Colesterolul seric scade în afecțiuni hepatice severe (ciroză evolutivă, hipertiroidism și malnutriție). Raportul colesterol liber/colesterol esterificat crește în afecțiuni hepatice grave. Trebuie subliniat faptul că valorile normale variază în funcție de: metodă, sex, vîrstă, condiție ecologică regională, alimentație, ritmicitate sezonieră și circadiană. Limitele valorilor normale în funcție de vîrstă sînt redată la cap. X. Valoarea medie normală pentru un adult între 40—60 ani este de 220 mg + 2 D.S. (5,7—6,7 mmoli).

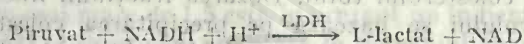
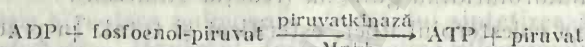
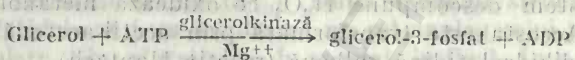
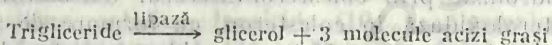
Trigliceridele plasmatice sînt de origine dublă, alimentară, exogenă, în chilomicroni și de origine endogenă, sintetică, înglobate fiind în fracțiunea lipoproteică a cărei densitate este foarte scăzută, pre- $\beta$ -lipoproteine (VLDL). Acizii grași care intră în compoziția trigliceridelor plasmatice sînt: acizii grași saturați (palmitici, stearici), 3,8%, acizi grași nesaturați (oleici, palmitoleici 45%, acid linoleic 14%, acid arahidonic 2%). Trigliceridele alimentare alcătuiesc 85—90% din compoziția chilomicronilor. Serul ce conține chilomicroni este tulbure sau lactescent, limpezindu-se în partea inferioară a coloanei de lichid, cu ridicarea chilomicronilor la partea superioară, la 4°C



(smintinire). Electroforetic, chilomicronii se situează în zona de start sau între aceasta și fracțiunea de mobilitate  $\beta$ . Serul normal nu conține chilomicroni; pe nemincate. Chilomicronii sînt prezenți (pe nemincate) în hiperlipoproteinemii tip I și V, precum și în hiperlipoproteinemii secundare din diabetul zaharat, sindromul nefrotic, pancreatită.

*Trigliceridele de sinteză* sînt încorporate pre- $\beta$ -lipoproteine (VLDL), fiind prezente în cantitate mică în serul normal, pe nemincate. Sînt crescute în hiperlipoproteinemii de tipul IIb și IV din clasificatia lui Fredrickson. În tipul III de hiperlipoproteinemie banda „ $\beta$ -largă” (broad  $\beta$ ) este o funcțiune de pre- $\beta$ -lipoproteină, cu mobilitate de  $\beta$ .

*Metoda de dozare.* În general se aplică procedee colorimetrice, cu reactivi chimici nespecfici. În ultimii ani s-au introdus procedee enzimatice. Pentru practicarea primei grupe de tehnici, este obligatorie saponificarea în soluție alcalină (cu KOH — de obicei), oxidarea glicerolului (curent cu periodat de sodiu), cu transformare în aldehidă formică, care este trecută apoi într-un compus colorat (cu acid cromotropie sau fenilhidrazină hidroclorică). În procedeele enzimatice sînt implicate patru trepte de reacții și anume:



Trigliceridele cresc în hiperlipemia esențială, în tipul IIb IV și V (din clasificatia lui Fredrickson), în diabetul zaharat, sindromul nefrotic și ciroza ficatului.

Valori normale ( $\bar{X} \pm 2 \text{ DS}$ ) = 50—150 mg/100 ml.

*Acizii grași liberi* circula în plasmă legați de albumine. Sînt alcătuiți din acizii grași saturați (palmitic, stearic) 49%, acizii grași nesaturați (oleic, palmitoleic) 38%, acid linoleic 10%, acid arahidonic 1,3%.

Pentru majoritatea organelor, acizii grași liberi reprezintă alături de glucoză, cel mai important substrat energetic.

*Metodica de dozare.* Se bazează pe colorimetrie (pentru acizii grași cu un număr de atomi de C mai mare de 10) cu formarea de săpunuri cu Cu; dozarea se efectuează cu dietilditioicarbamat de Na. Se poate aplica și titrimetria (cu albastru de Nil sau  $\beta$ -metilumbeliferonă-fluorescență). Nu sînt prea des investigați în chimia clinică. Se admite în general că o singură determinare este lipsită de semnificație.

Valori normale: 15—25 mg/100 ml (sau 0,3—0,8 mmol/l).

#### XIV.5.4.2. Separarea lipoproteinelor

Separarea lipoproteinelor — grupurile majore — se face prin procedeele următoare:

*Ultracentrifugare de flotație.* Metoda poate fi aplicată, după caz, în scop analitic sau preparativ. Lipoproteinele au o densitate foarte mică datorită

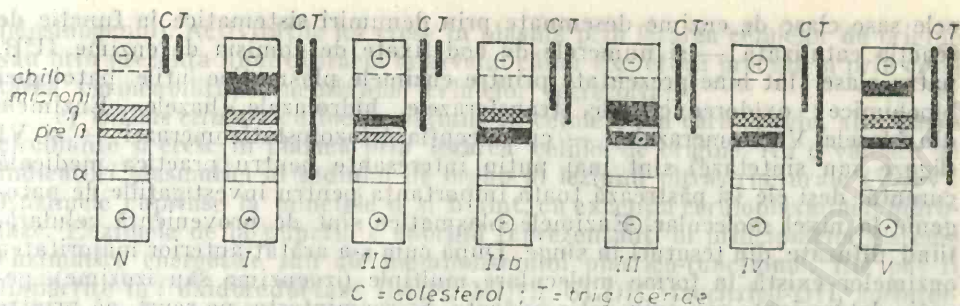


Fig. XIV.28 — Tipurile de hiperlipoproteinemie (după Fredrickson).

constituenților lipidici ce intră în compoziția lor. Majoritatea proteinelor serice au densitate cuprinsă între 1,33 și 1,35 iar lipoproteinele au densitate mai mică de 1,21. Supunând un ser a cărui densitate a fost stabilită la 1,20 la o forță centrifugală intensă 100.000—200.000 g, lipoproteinele flotează la suprafață, în timp ce proteinele sedimentează. Fiecare moleculă lipoproteică este caracterizată printr-o constantă specifică de flotație notată cu  $S_y$ .

**Electroforeza de zonă.** În acest procedeu suportul de elecție este agaroză. Mai înainte s-a practicat și electroforeza pe hirtie, dar în prezent este pe cale de a fi părăsită, datorită slabei calități rezolutive pentru lipoproteine. La fel și electroforeza în gel de agar-agaroză sau de poliacrilamidă. Este de subliniat totuși faptul că în 1967 Fredrickson a stabilit, pe baza electroforezei pe hirtie, clasificarea hiperlipoproteinemiilor, în cele cinci tipuri menționate și azi la baza investigațiilor și tratamentului privind dislipidemiile. Folosind soluții tampon cu albumină umană sau bovină 1%, capacitatea rezolutivă a electroforezei pe hirtie a permis — după cum s-a arătat — sistematizarea cunoscută în clasificarea menționată.

**Precipitarea fracționată.** Fraționarea alcoolică se face la temperaturi scăzute, prin metoda Cohn și colab. Cu ajutorul acestei metode se poate separa fracțiunea a III-a, care conține lipoproteinele și fracțiunea IV, în care se găsesc  $\alpha$ -lipoproteinele.

**Testele de triaj:** precipitarea pre- $\beta$  și  $\beta$ -lipoproteinelor prin heparină sau sulfat de dextran în prezența  $\text{CaCl}_2$  sau  $\text{MnCl}_2$  (Burstein-Samailles); sau prin polivinilpirolidonă (PVP) și a pre- $\beta$ -lipoproteinelor prin PVP în prezență de  $\text{NaCl} + \text{LiCl}$ . Se practică și o serie de alte variante. O probă practică pentru triaj este și testul Kunkel-fenol, prin care se precipită  $\beta$ -lipoproteinele.

— **Cromatografia în faza gazoasă** s-a aplicat în special în studiul acizilor grași din lipoproteine.

— **Lipidograma** în gel de agaroză — practică azi pe scară largă — permite detectarea și caracterizarea corectă a diferitelor tipuri de hiperlipoproteinemie, redată în fig. XIV.28 și prezentate mai înainte în capitolul VIII.

#### XIV.5.5. ENZIMELE PLASMATICE

Din cele circa 2.000 enzime cunoscute pînă în prezent, o mică parte se găsește în plasmă (sau ser) și sînt investigate în mod clinic de diagnostic, prognostic, stabilirea evolutivității proceselor cronice și orientarea terapiei. Din



cele șase clase de enzime desemnate prin denumiri sistematice în funcție de reacția catalizată — și numerele de cod fixate de comisia de enzime IUB, patru clase sînt bine prezentate printre enzimele plasmatice utile patologiei biochimice: oxidoreductazele, transferazele, hidrolazele, liazele. Enzimele din clasele V (izomerazele) — cu excepția triozofosfatizomerazei — și VI (ligaze sau sintetaze) sînt mai puțin interesante pentru practica medicală curentă, deși ele își păstrează toată importanța pentru investigațiile de patologie la nivel molecular. Enzimele plasmatice sînt de proveniență celulară, fiind difuzate din țesuturi în singe. După cum s-a arătat anterior majoritatea enzimelor există în forme moleculare multiple (izoenzime sau izozime), genetic determinate sau epigenetic apărute. Se reamintește, pe scurt, că printre cauzele acestei heterogenități enzimatice se recunosc (pe lângă determinismul genetic și hibridizarea a două sau mai multe lanțuri peptidice prin legături necovalente — tip LDH —) și următoarele posibilități: dubla localizare, în citosol și mitocondrială (ex. GOT); conjugarea proteinelor cu alte grupări chimice (ex. fosforilaza a — fosfosforilaza b); scindarea unui lanț peptidic (ex. tripsina din tripsinogen); polimerizarea unei unități de bază (ex. GLDH tetramer cu greutate moleculară 1 milion din patru unități de bază cu greutate moleculară 250 000); modificări conformaționale (probabil prin diferite acțiuni alosterice).

Procedeele tehnice aplicate cel mai frecvent prin detectarea și caracterizarea izoenzimelor în chimia clinică sînt cele electroforetice, cele bazate pe proprietăți cinetice diferențiate (inhibiție termică sau chimică, afinități diferite  $K_m$  diferit — față de substraturi sau de coenzime). Mai puțin folosite sînt procedeele cromatografice pe coloane de schimbători de ioni sau filtrarea în gel de Sephadex sau (cu aplicare în chimia clinică curentă) așa numitele „batch-procedure”. În enzimologia curentă dozarea enzimelor se face prin evaluarea activităților, iar caracterizarea compoziției izoenzimatice prin tehnica zimogramei — asocierea electroforezei de zonă în diferite geluri — agar, agaroză, acrilamidă, celogel (acetat de celuloză) — cu vizualizarea activității enzimatice prin procedee histoenzimatice. Complementar, se aplică una din modalitățile menționate mai sus, în special inhibiția termică sau utilizarea inhibitorilor specifici (L-fenilalanina, pentru fosfazata alcalină intestinală de IPFP\*) pentru esteraze; uree 2 M pentru LDH<sub>5</sub>).

#### XIV.5.5.1. Clasificarea funcțională a enzimelor plasmatice

Enzimele prezente în plasmă aparțin, din punct de vedere al provenienței și funcției lor, următoarelor categorii:

a) *enzime secretorii cu rol activ în plasmă*, denumite și enzime plasmatice funcționale, produse în special în ficat: enzimele coagulării, lecitîn-colesterol-transferaza (LCAT), pseudocolinesteraza, ceruloplasmina, renina. Nivelul lor plasmatic scade prin lezarea celulelor producătoare;

b) *enzime excreto-secretorii*, provenind din glandele exocrine și pancreas, sînt excretate și acționează la nivelul tubului digestiv (amilaza, lipaza, tripsina,

\* IPFP = izopropilflorofosfat.

pepsinogenul). Activitățile lor cresc în plasmă prin lezarea celulelor de origine sau prin prezența unui obstacol la nivelul căilor excretorii precum și prin creșterea permeabilității membranei celulelor secretorii;

c) *enzime celulare* cu loc de acțiune în celulele din care provin, sînt pasiv circulante și cresc în plasmă prin lezarea celulei de origine. Au o valoare de indicatori plasmatici ai sediului de organ al leziunii ultrastructurale (V.XV). Enzimele cuprinse la punctele a și b sînt, cu excepția ceruloplasminei, hidrolaze. Enzimele de la punctul c cuprind reprezentanți ai principalelor sisteme enzimatice energetice sau ale metabolismului plasticofuncțional. Ele pot fi împărțite în: oxidoreductaze (LDH, MDH, GLDH, Izocitric-DH, sorbitol-DH), transferaze (GOT, GPT, CPK, OCT, gama GT), liaze (fructozo-1,6-difosfat aldolaza și fructozo-1-fosfat-aldolaza), hidrolaze (fosfataza alcalină și acidă, leucina-amino-peptidaza (LAP).

#### XIV.5.5.2. Mecanismul disenzimiei plasmatice

Mecanismul trecerii enzimelor și izoenzimelor tisulare în ser este foarte complex. Ele ajung direct sau prin sistemul limfatic în spațiul extracelular. Situațiile patologice de la modificarea permeabilității selective a membranelor celulare, pînă la necroza de coagulare cu distrugerea celulei — determină revărsarea enzimelor în torrentul circulator. Se poate admite că disenzimia plasmatică este o rezultată a interacțiunii mai multor factori, dintre care principalii sînt:

- viteza diferită a biosintezei enzimelor ce pot fi modificate la nivelul controlului genetic, în transcripție sau translație;

- localizarea ultrastructurală diferită a enzimelor, cele citoplasmatiche fiind mai ușor revărsate în circulație decît desmoenzimele legate de membranele organelor;

- greutatea moleculară a enzimelor, cele cu greutate mai mare traversînd mai greu membranele;

- gradul de alterare al proceselor energetice și consecutiv al permeabilității selective a membranelor;

- diferențele viteze de distribuție a moleculelor enzimatice în spațiul extracelular;

- timpul de înjumătățire ( $T/2$ ) diferit al enzimelor plasmatice care socotit în ore este: LDH<sub>1</sub> — 113 ore; GPT — 47 ore; GLDH — 78 ore; GOT — 17 ore; CK — 15 ore; LDH — 5—10 ore;

- vascularizația organului lezat;

- inactivarea inegală la nivelul sistemului SRII;

- eliminare diferită, de altfel destul de redusă, prin bilă (fosfataza alcalină, 5'-nucleotidază, LAP, ceruloplasmină) și urină (numai enzimele cu greutate moleculară mai mică de 60 000);

- schimbarea profilului enzimatic al organului prin boală;

- suprapunerea modelelor enzimatice caracteristice diferitelor organe lezate (ex. în stare de șoc).



Majoritatea enzimelor ce pot fi puse în evidență în plasmă sînt răspîndite în celulele tuturor organelor. Totuși, există și posibilitatea de localizare a leziunii celulare indicată prin modificări enzimatice ce permit concluzii diagnostice cu caracter de specificitate, prin următoarele modalități:

a) dozarea unei enzime specifice de organ. De altfel, sînt puține enzime de acest fel (OCT, SDH, fructozo-1-fosfat-aldolaza pentru ficat, CPK pentru mușchi);

b) determinarea și caracterizarea izoenzimelor cu valoare organospecifică: LDH<sub>1</sub>, LDH<sub>2</sub> pentru miocard CPK/MB pentru miocard, LDH<sub>5</sub> pentru ficat;

c) determinarea activității unor grupuri (baterii sau constelații de enzime), cu stabilirea unor rapoarte caracteristice profilului de organ.

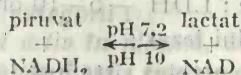
Dispersia profilului enzimatic de organ ca urmare a revărsării în plasmă. Lezarea principalelor organe ar trebui să se reflecte în plasmă sub aspectul profilului lor enzimatic caracteristic (Enzym-Verteilungsmuster). Reflectarea plasmatică a profilului de organ nu se observă totuși în mod constant, deoarece se produce așa numitul fenomen de dispersie a profilului, datorat complexității și inegalității de contribuție a factorilor cauzali menționați mai înainte în determinismul fenomenului de disenzimie. Dispersia enzimatică este mult mai marcată după o leziune unică și gravă (infarct miocardic întins, necroză hepatică difuză), fapt care explică utilitatea testelor, în special în bolile acute. Agresiunile slabe și repetate favorizează în așa măsură fenomenul de dispersie, încît rapoartele activității enzimatice serice nu mai corespund celor din celulele de origine.

Metodele de investigare a enzimelor plasmatiche se bazează pe: colorimetrie, spectrofotometrie în UV, în zona 340—366 nm (teste optice); fluorimetrie; precădee cromatografice în special sub formă „batch procedure”; imunodozări (cu antienzime) în variantele recent aplicate, și chiar EISA și ELISA (enzime linked immuno sorbent assay); procedee rapide sau simplificate pentru detectări orientative de valori enzimatice crescute;

#### XIV.5.5.3. Principalele enzime plasmatiche cu valoare diagnostică

**Oxidoreductaze.** Lactat-dehidrogenaza (LDH), L-lactat : NAD<sup>+</sup> oxidoreductaza, EC 1.1.1.27.

Această enzimă este prezentă în toate celulele organismului catalizînd reacția:



la pH fiziologic echilibrul este în favoarea formării lactatului. După cum s-a precizat anterior, molecula de LDH este un tetramer alcătuit din două subunități peptidice H (tip miocardic) și două subunități peptidice M (tip muscular scheletic) ce se asociază în cele cinci izoenzime cunoscute în toate țesuturile.

Testiculul postpuberal conține în plus o enzimă organospecifică — LDH<sub>x</sub> — cu mobilitate electroforetică între LDH<sub>3</sub> și LDH<sub>4</sub>.

Modelele izoenzimice LDH sînt de două tipuri : anodale, cu preponderență de subunități H și izoenzime LDH1(H<sub>4</sub>), LDH2(H<sub>3</sub>M) așa cum se întîlnesc în ser și țesuturile cu fosforilare oxidativă intensă (creier, rinichi, miocard) și catodale cu preponderență de subunități M și izoenzime LDH4(HM<sub>3</sub>) și LDH5(M<sub>4</sub>) ca în țesuturile cu intensă glicoliză anaerobă (mușchiul scheletic).

*Metode de dozare pentru LDH total* : (1) test optic spectrofotometric, bazat pe reacția piruvat + NADH + H = lactat + NAD<sup>+</sup> : absorbția în UV scade prin transformarea NADH în NAD ; (2) fluorimetrie, pe baza aceiași reacții, cu scăderea fluorescenței prin trecerea NADH în NAD ; (3) colorimetrie (reacția Babson) pe baza reacției de culoare cu săruri de tetrazoliu care sînt reduse în formazan colorat. Cea mai utilizată sare este clorura de 2-(p-iodfenil)-3-(p-nitrofenil)-5-feniltetrazoliu. Reacția folosește lactatul ca substrat și este utilizată și în chiturile comerciale de reactivi (Goedecke „Lac de histrat“ și chituri „Lachema LDH“) ; (4) teste rapide ce permit evaluări orientative a creșterii de LDH pe baza reacțiilor cu săruri de tetrazoliu sau diclor-fenolindofenol.

Izoenzimele LDH se caracterizează prin : zimcgramă, după electroforeză în gel de agar, în gel de amidon, folii de acetat de celuloză sau gel de poliacrilamidă, prin vizualizarea pe baza reacției : lactat-NAD-fenazinmetosulfat-nitro BT ; absorbție selectivă pe DEAE celuloză sau DEAE Sephadex, LDH<sub>1</sub> și LDH<sub>2</sub>, fiind adsorbite preferențial ; afinitate diferențială față de substrat : omologul superior al acidului piruvic (2-oxobutiratul) este transformat preferențial prin LDH<sub>1</sub>. LDH<sub>2</sub> (-activitate  $\alpha$ -hidroxibutiratdehidrogenază- $\alpha$ -HBDT-test optic) inhibiție diferențială, prin concentrație ridicată de substrat (lactat — ca în chitul „profil LDH“ — Goedecke), pentru LDH<sub>1</sub> și LDH<sub>2</sub> sau prin uree 2M pentru LDH<sub>5</sub> : inhibiție termică : 30 minute la 65%, se inhibă LDH<sub>5</sub>, LDH<sub>4</sub>. Distribuția procentuală a activității LDH enzimogramă (evaluată prin densitomerie și planimetrie) este următoarea în serul uman normal : LDH<sub>1</sub> : 30—37% ; LDH<sub>2</sub> : 42—52% ; LDH<sub>3</sub> : 10—16% ; LDH<sub>4</sub> : 3—4% ; LDH<sub>5</sub> : 1,5—2%. Valori medii (I.M.I.) LDH<sub>1</sub> 40%, LDH<sub>2</sub> 45,1%, LDH<sub>3</sub> 11,2%, LDH<sub>4</sub> 2,2%, LDH<sub>5</sub> 1,5%.

*Variații patologice, semnificații diagnostice.* Creșterile de LDH total nespecifice se produc principal în infarctul miocardic, necroza hepatică acută (hepatita virală acută), anemie pernicioasă, stări neoplazice, leucoze acute. Valoare diagnostică specifică au numai modificările izoenzimice. Astfel, creșterile de LDH<sub>1</sub> și LDH<sub>2</sub>, cu LDH<sub>1</sub> mai mare ca LDH<sub>2</sub> în infarctul miocardic, iar LDH<sub>2</sub> mai mare ca LDH<sub>1</sub> în anemia megaloblastică, anemia pernicioasă, stări hemolitice. LDH<sub>5</sub> este crescut în necroza hepatică și uneori în procesele neoplazice (Fig. XIV.29).

*Izocitrat dehidrogenaza, L-izocitrat* : NADP — oxidoreductaza decarboxilantă, E.C. : 1.1.1.42.

Enzima catalizează reacția de oxidare a izocitratului în -oxobutirat. În plasma umană se găsește forma NADP dependentă. În interiorul celulelor enzima este distribuită bilocular : în mitocondrii și citoplasmă. Activitatea izocitric-DH totală a fost explorată în sindromul de citoliză hepatică (valori crescute). În pofida așteptărilor, explorarea izoenzimelor ICDH nu a putut fi utilizată în scop diagnostic, decît într-o măsură restrînsă în bolile de ficat. În infarctul miocardic nivelul activității enzimatice serice nu înregistrează creșteri deoarece izoenzima miocardică este extrem de labilă.



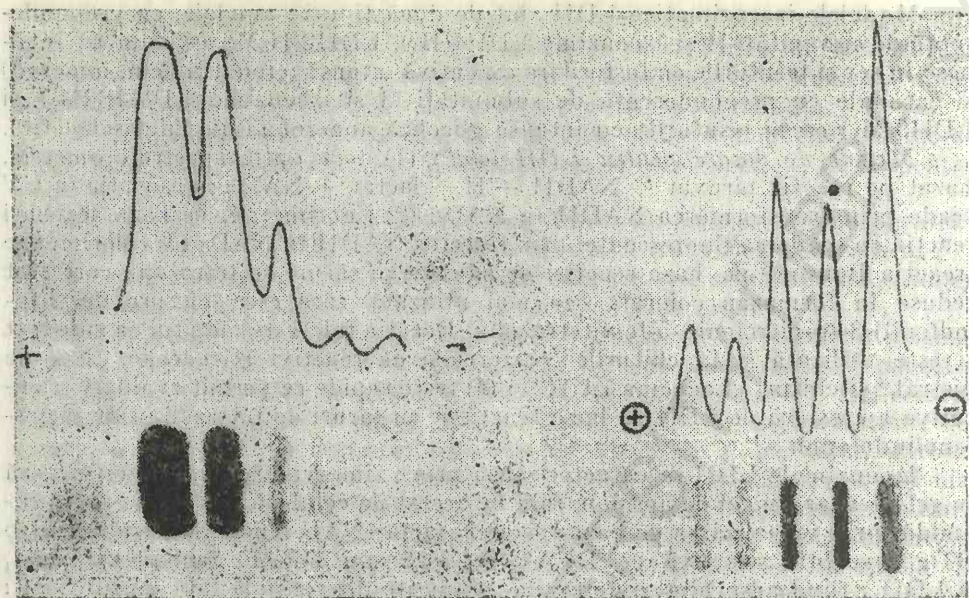
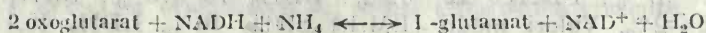


Fig. XIV.29 — Zimogramma seriea LDH: a) infarct miocardic; b) necroză hepatică.  
fotografie

**Glutamat dehidrogenaza (GLDH), L-glutamat : NAD<sup>+</sup> — oxidoreductaza, EC : 1.4.1.2.**

Enzima este prezentată în mitocondriile hepatice și are o activitate mai redusă în miocard și rinichi. Catalizează reacția :



GLDH seriea are o deosebită semnificație prognostică, fiind indicator de leziune mitocondrială. Valorile raportului Schindt, GOT + GTP/GLDH, aduc importante date în privința prognosticului unei hepatopatii evolutive.

**Metodica de dozare :** test optic pe baza reacției menționate mai înainte. În mediu se adaugă ca activator ADP și L-leucina. Valorile normale : bărbați 4 mUI/ml, femei 3 mUI/ml. Ca variații patologice sînt semnalate creșteri în ser necrozele hepatice, colestază, infarct miocardic, abuz de alcool.

**Sorbitoldehidrogenaza.** L-itol : NAD-oxidaza, E.C. 1.1.1.14.

Această poli-ol-oxidoreductază, NAD dependentă, este specific hepatică. În plasma normală nu se găsește sau are concentrație extrem de mică (0,2 mU/ml). Valorile foarte crescute se întîlnesc în hepatita virală acută. În fazele de evolutivitate ale bolilor cronice, valorile sînt foarte ușor crescute. Se dozează spectrofotometric folosind fructoza ca substrat sau colorimetric prin reacția de culoare cu rezorcină și tiouree.

**Transferaze.** Glutamatoxaloacetat-transaminaza (GOT) L-aspartat ; 2-oxoglutarat-aminotransferază ; ASAT, (aspartat-aminotransferază), E.C. 2.6.1.1.

Aceasta este o enzimă biloculară, citoplasmatică și mitocondrială, prezentă în toate celulele, în special în miocard, ficat, mușchi, și rinichi.

**Metodica de dozare:** colorimetrie, bazată pe reacția oxalacetatului produs în cursul transaminării, cu sarea de diazoniu (azoen Fast violet B == 6-benzamido-4-metoxi-m-toluidin diazoniu clorid) sau FAST Ponceau L (N-butil-4-metoxi-m-amil-amid-diazoniusalz); hidrazonile formate în mediul alcalin, din oxalacetat și 2—4 dinitrofenilhidrazină test optic cuplat cu reacția auxiliară și reacție indicatoare NADH dependentă, cu MDH (malatdehidrogenază); vizualizarea ASAT prin azoen Fast violet B. Valori normale 19—29 mUI/ml. Ca variații patologice sînt cunoscute creșteri în infarctul miocardic cu maximum în primele 24—48 ore cu normalizare în 4 pînă la 7 zile, precum și în hepatopatii și stări hemolitice.

**Alanintransferaza (GPT).** Glutamat-piruvat-transaminaza, L-alanin-2-oxoglutarat-aminotransferază E.C. 2.6.1.2.

Enzima serică și variațiile ei au deosebită importanță în patologia hepatică, deoarece citoplasma hepatocitelor o conține în cantitate mare. Ca variații patologice creșterile de GPT sînt utilizate în diagnosticul precoce al formelor anicterice de hepatită și în depistarea perioadelor de evolutivitate a hepatitelor cronice.

**Metodica de dozare:** (1) colorimetrie, prin dozarea piruvatului în cursul reacției, cu 2—4 dinitrofenilhidrazina și formarea hidrazoniei respective în mediul alcalin; (2) spectrofotometric prin test optic cuplat cu reacția auxiliară NADH-dependentă și LDH cu reactiv enzimatic. Valorile normale: bărbați 13—31 mUI/ml, femei 10—24 mUI/ml, valori patologice mai mari de 49 mUI/ml.

**Creatin-fosfokinaza-CPK.** ATP : creatin-N-fosfotransferaza, E.C. 2.7.3.2.

Enzima se găsește în trei forme izoenzimatică, prezente în citoplasma și mitocondriile din miocard, mușchi și creier. Această enzimă catalizează formarea de ATP din creatin fosfat și ADP este prezentă în țesuturile menționate sub următoarele forme: MM, în musculatura scheletică și miocard, BB în creier și musculatura scheletică iar MB, în miocard. Creșterile patologice ale enzimelor serice (de la 10—20 de ori valoarea normală) și variațiile izoenzimelor sale, sînt deosebit de importante pentru patologie. Enzima serică se inactivează foarte repede prin oxidarea grupărilor SH și ale situsului său catalitic. Ca variații patologice importante se cunosc creșterile mari (200—1 000 mUI/ml) în primele 2—3 ore cu maximum în 12—36 de ore în infarctul miocardic (proporțional cu întinderea necrozei). Paralel, se produc creșteri ale izoenzimei CPK/MB. În miopatii sînt semnalate de asemenea creșteri de CPK fără mărirea activității izoenzimei CPK/MB. Sînt observate în distrofia musculară, traumatisme musculare sau numai în caz de injecții intramusculare, în polimiozită, dermatomiozită, hipertermia malignă post operatorie sau după biopsii musculare. În leziunile sistemului nervos central prin hemoragii cerebrale, în intoxicații cu somnifere, în electroșoc sau după narcoză (halotan) se produc creșteri de CPK fără modificarea izoenzimei CPK/MB. Metodica de dozare: prin test optic, spectrofotometric în două variante, metoda cu fosfohexokinază și glucozo-6-fosfatdehidrogenaza ca reactiv enzimatic și metoda cu fosfoenolpiruvat (PEP), enolază, piruvatkinază. Colorimetric, bazată pe reacție de culoare (albastru de molibden) a acidului fosforic liberat în reacție. Valorile enzimatică normale: varianta GL6 PDH, pînă la 50 mUI/ml iar varianta PK pînă la 1 mUI/ml; varianta colorimetrică 1—6 mUI/ml.



**Ornitin-carbamiltransferaza (OCT).** Carbamilfosfat : L-ornitincarbamil-transferaza, C.E. 2.1.3.3.

Este enzima specific hepatică, activă în ciclul ureogenetic. Catalizează transferul grupului carbamil de la carbamilfosfat la oritină, pentru formarea citrulinei (reacția fiind favorizată de arseniat). Este un indicator sensibil de leziune hepatică. În hepatita virală acută creșterile merg pînă la  $\times 100$  ori valoarea normală. În ciroze și metastaze hepatice, creșterile sînt moderate. Principala metodă de dozare, aplică microdifuzia amoniacului provenit din carbamil-fosfat, urmată de reacția de culoare a amoniacului cu reactiv Berthelot (hipoclorit de Na și fenol). Se pot folosi procedee izotopice, în care gruparea carbamil a citrulinei este marcată cu  $^{14}\text{C}$ .

**$\gamma$ -Glutamyltranspeptidaza (transferaza) ( $\gamma$ GT).**  $\gamma$ -glutamylpeptid : amino-acidtransferaza, E.C. 2.3.2.2.

Enzima serică provine din membranele citoplasmei celulelor care o conțin (epiteliile căilor biliare, prostată, celule tubulare renale, căile excretorii pancreatice). Timpul său de înjumătățire este de 72 de ore. Narcoticele, carcinogenele, hormonii sexuali și alcoolul induc sinteza de  $\gamma$  GT. Ca variații patologice importante cu valoare diagnostică diferențială sînt creșterile activității enzimatică produse în colestaza intra- și extrahepatică, abuzul de alcool, ciroza biliară, infarctul miocardic și carcinomul prostatic.

**Metoda de dozare :** colorimetric, bazată pe scindarea glutamil-4 nitro-anilidei (sau mai avantajoasă a L- $\gamma$  glutamil-3 carboxi-4-nitroanilidei), cu măsurarea extincției 4-nitroanilidei liberate (în soluție alcalină). Valori normale :

barbați : 6—24 mUI/ml, femei : 5—11 mUI/ml.

**Hidrolaze. Fosfataza alcalină,** ortofosfomonoesterfosfohidrolaza, E.C. 3.1.3.1.

Fosfataza alcalină serică este alcătuită principal din trei forme izoenzimatică (hepatobiliară, osoasă și intestinală), la care se adaugă în cursul sarcinii o formă tranzitorie, forma placentară. Creșterile fosfatazei alcaline serice sînt folosite în diagnosticul diferențial al afecțiunilor hepato-biliare. False creșteri pot fi provocate de psihedelize, inhibitori ai ovulației și anticoagulante. Prednisonul și testosteronul provoacă scăderi. Investigarea izoenzimelor fosfatazei alcaline permite localizarea leziunii care determină creșterea. Astfel, fosfataza alcalină osoasă are valori ridicate în cursul creșterii, în rahitism, boala Paget, hiperparatiroidism, metastaze osteoblastice (prostată, carcinom mamar), osteosarcoame. Forma intestinală ajunsă pe cale limfatică în ser, crește în cirozele hepatice, ulcerul duodenal (cercetări recente) și prin excesul de grăsimi alimentare. Forme atipice se întîlnesc în procesele neoplazice, în special, hepatice. Fosfataza alcalină de tip Regan ca și Nagao este corespunzătoare biologic și biochimic celei placentare fiind adesea prezentă în serul purtătorilor de tumori maligne (hepatoame). Este termostabilă.

**Metodica de dozare și caracterizarea izoenzimatică :** colorimetric prin metoda internațional standardizată în prezent, bazată pe hidroliza paranitro-fenilfosfatului.

Izoenzimele se pun în evidență și se caracterizează prin electroforeză în gel de amidon sau de poliacrilamidă, vizualizarea făcîndu-se prin azocuplare cu starea de diazoniu Fast blue BB, cu naftolul provenit din naftil

fosfat (substrat). Mobilitatea electroforetică este diferită cu forma moleculară a fosfatazei alcaline, ordinea descrescând a acestei valori fiind de la anod către catod, următoarea: hepatică, osoasă, intestinală.

Stabilitatea termică a fosfatazelor alcaline hepatică și mai ales placentară se pune în evidență prin încălzirea serului 10 de minute la 56°. Forma intestinală a fosfatazei alcaline poate fi pusă în evidență prin inhibiție chimică diferențială cu L-fenilalanină, L-tirozină, L-triptofan. Fosfataza alcalină placentară este de asemenea inhibată prin L-fenilalanină. Valori normale ale fosfatazei alcaline: adulți 14—48 mUI/ml, copii 30—140 mUI/ml.

*Fosfataza acidă*, ortofosfomonoester-fosfohidrolaza, E.C. 3.1.3.2.

Enzima se găsește în toate organele, astfel, în ordinea descrescând a conținutului lor în enzimă: prostata, oasele, ficatul, splina, rinichiul, eritrocitele, leucocitele, trombocitele și glandele endocrine. Fosfataza acidă este heterogenă. În omogenatele de prostată au fost detectate prin electroforeză în gel de poliacrilamidă trei fracțiuni. Enzima este instabilă înactivându-se la temperatura de peste 37°, așa încât dozările respective nu sînt recomandabile în stările febrile. Ca variații patologice sînt foarte importante, pentru diagnostic pozitiv și diferențial, creșterea activității fosfatazei acide și mai ales a izoenzimei sale tartrico-sensibilă în carcinomul de prostată metastazat. Trebuie menționat că se produc creșteri ușoare prin manipulări de prostată (palpare) sau după citoscopie și cateterism. Creșteri ale fosfatazei acide de origine osoasă se produc prin metastaze osoase ale cancerelor, mai ales de colon, mamă, din corticala suprarenală și pulmonară. Fosfataza acidă trombocitară este liberată în ser în cursul coagulării. Creșteri remarcabile se produc prin distrugerea trombocitelor în tromboze, embolii pulmonare, trombastenii.

*Metodica de dozare*: colorimetric, pe baza aceleiași reacții de hidroliză a paranitrofenilfosfatului în mediu acid. Izoenzimele se caracterizează prin mobilitate electroforetică sau inhibiție chimică diferențială: L-tartratul inhibă activitatea izoenzimelor prostatice (și a celei leucocitare) iar aldehida formică inhibă izoenzimele de sursă eritrocitară și trombocitară. Valori normale pentru activitatea totală pînă la 11 mUI/ml; pentru izoenzima tartrico-sensibilă: 0,57—1,5 mUI/ml.

*5-Nucleotidaza*, 5-ribonucleotid-fosfohidrolaza, E.C. 3.1.3.5.

Enzima acționează numai asupra nucleotizilor fosforilați la carbonul 5 al ribozei. Creșterile acestei activități enzimatice sînt utile la diagnosticul icterelor obstruative. Testul este tot atît de util ca și creșterea fosfatazei alcaline, dar mai selectiv pentru diagnosticul diferențial. Activitatea 5'-nucleotidazică nu crește prin leziuni osoase cu interesare osteoblastică, așa cum se întîmplă cu fosfataza alcalină. Dozarea se face colorimetric, bazată fiind pe formarea albastrului de moliбden din acidul fosforic eliberat de enzimă.

*α-Amilaza*, 1,4-αD-glucan-hidrolaza, E.C. 3.2.1.1.

Enzima este eterogenă și prezentă în ser în două forme izoenzimatiche principale: salivară și pancreatică. O formă moleculară rară este întîlnită ca macroamilazemie serică, izoenzimă care — datorită dimensiunii sale mari — nu trece prin rinichi. Amilaza hidrolizează amidonul, glicogenul, poli- și oligo-zaharidele, cu liberarea produselor de degradare, în configurația α. Se găsește în salivă, pancreas, suc duodenal, ficat, intestin subțire (după unii autori chiar și în creier). Ca variații patologice cu importanță diagnostică



se cunosc creșterile importante din pancreatita acută (cu lățirea benzii pancreatice în zimogramă), în parotidite și sialolitiază (cu lățirea benzii salivare în zimogramă). Se observă creșteri nespecifice în peritonite, ileus, perforații, sarcină extrauterină perforată. Valorile crescute în ser se însoțesc și de creșteri urinare; clearance-ul enzimelor fiind foarte ridicat, cu excepția macroamilazemiei în cursul căreia amilaza urinară lipsește.

**Metodica de dozare.** Evaluarea se face pe bază colorimetrică cu două variante principale: 1) măsurarea degradării amidonului, prin reacția de culoare albastră iod-amidon. Evaluarea se face pe baza scăderii extincției. 2) Degradarea polimerilor de amidon insolubil în apă, legați cu un colorant (ex. remazolbriliant-blau-B). Evaluarea se face pe baza creșterii extincției datorită colorantului liberat.

Valori normale în prima variantă 70-300 UI/l, în varianta a II-a 130—2 000 UI/l.

Caracterizarea izoenzimatică prin zimogramă se face în două variante, după electroforeza în gel de agar: a) cu vizualizare prin reacția zaharogenică (cu glucozoxidază, maltază, peroxidază și cu cromogen tip ortotoluidină) și b) prin reacția iod-amidon.

**Lipaza pancreatică** (triglicerol-acil-hidrolaza) — E.C. 3.1.1.3.

Această enzimă este mai puțin explorată în mod curent. Crește în afecțiuni pancreatice acute. Se dozează cu trioleină sau ulei de măsline prin titrarea acizilor grași eliberați sau fotometria săpunurilor de cupru provenite din acizi grași liberați de enzime.

**Colinesterazele.** **Acetilcolin-hidrolaza**, E.C. 3.1.1.7. și **colinesteraza nespecifică** (pseudocolinesteraza): E.C. 3.1.1.8.

În timp ce prima enzimă din această categorie hidrolizează strict acetilcolina, cea de a doua hidrolizează benzoilcolina, tributiril-colina, acetiltiocolina. Enzimele sînt heterogene. Se cunosc variante atipice ale pseudocolinesterazei ce justifică comportarea anormală (apnee prelungită) față de relaxantele musculare ca Suxametoniu (succinilcolină), utilizate în anestezia generală. Inhibiția diferențială prin Dibucaină și NaF servește la stabilirea variantelor genetice ale pseudo-colinesterazei la om.

Ca variații importante patologice se cunosc scăderile pseudocolinesterazei în afecțiuni hepatice cronice evolutive, în special în ciroză. Importante scăderi se produc de asemenea în intoxicațiile cu organo fosforice. Ca metodica de dozare se aplică: titrimetria folosind acetil colina ca substrat, colorimetria cu folosirea acetil tiocolinei ca substrat și evaluarea tiocolinei eliberate cu acid 5-5'-ditio- bis(2-nitro-benzoic) (DTNB); dozarea orientativă prin test rapid bazat pe viraj de culoare produs de acidul acetic eliberat de enzimă. Izoenzimele sînt caracterizate prin electroforeză în gel de agar cu vizualizare bazată pe azocuplare. Pot fi caracterizate și prin inhibiție chimică diferențială cu NaF di-izopropilfluorofosfat etc. Valori normale 1 900—3 800 mUI/ml.

**Leucinaminopeptidaza (LAP)**, L-leucil-peptidilhidrolaza, E.C. 3.4.11.1.

Această enzimă este plasmatică și provine preponderent din celulele parenchimului hepatic, fiind prezentată însă și în alte organe ca: pancreasul, rinichiul, intestinul, mucoasa. Este heterogenă; în plasma normală activitatea LAP în zimogramă se concentrează în zona de mobilitate electroforetică  $\alpha_1$ , iar în condiții patologice în zone de mobilitate electroforetică  $\alpha_2$ .

Enzima catalizează eliberarea hidrolitică a leucinei N-terminale din peptidele leucineice și analogii de peptide. Valori normale: 2—6 mUI/l. Variațiile patologice importante pentru diagnostic diferențial și pozitiv, sînt creșterile semnalate în icterele obstructive prin obstacol biliar (litiază biliară sau neoplasm de cap de pancreas, precum și în colestaza hepatică).

**Enzima Renin** E.C. 3.4.99.19. Enzima este o protează implicată în sistemul renină-angiotensină (cap. XIX). Se dozează în singele venos periferic sau în singele venos renal, în regim normosalin sau după regim declorurat. Se dozează biologic prin măsurarea angiotensinei II (la șobolani); sau radio imunologic prin măsurarea angiotensinei I, provenită din angiotensinogen. Valorile normale: pînă la 35—59 micro U Renin/ml. Valori crescute se întîlnesc în hipertensiunea renală, în hiperaldosteronism secundar, hiperplazia aparatului juxtaglomerular, alcaloza hipokaliemică. Scăderi ale valorilor se observă în parkinsonism și hiperaldosteronism primar.

**Liaze.** Se cunosc trei tipuri de aldolaze: A, din mușchi, B din ficat și C din creier.

Dintre acestea se găsește în ser formele A și B. Sînt enzime tetramerice. Enzima hepatică: fructozo-1-fosfat-aldolaza = ceto-1-fosfat-aldolaza, E.C. 4.1.2.13, se dozează prin test optic cuplat cu reacția auxiliară și reacție indicatoare, cu măsurarea în final a activității gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenazei sau colorimetric prin metoda hidrazonelor.

**Enzima musculară**, fructozo-1,6-difosfat-aldolaza — fructozo-1,6-difosfat-D-gliceraldehid-3-fosfat-liaza, C.E. — 4.1.2.13.

Dozarea ei se face ca la enzima hepatică, prin test optic cuplat cu reacția auxiliară și reacția indicatoare sau prin metoda hidrazonelor.

Valori normale: activitatea aldolazică totală: 0,5—1,4 UI/l (la 25°) și 2—6 UI/l (la 37°). Tipul A reprezintă 57—88% din activitatea totală, iar B 12—47%. Ca variații patologice importante sînt de semnalat creșterile observate în hepatopatii și miopatii, în infarctul miocardic și în cancerul vezical.

Din ansamblul explorărilor enzimactice, sînt redate principalele investigații ale enzimelor serice, cu valoare diagnostică în tabelul XIV.6.

## XIV.6. CONSTITUENȚI MINERALI AI PLASMEI

Principalul constituent mineral al plasmăi este apa. Ea îndeplinește funcția de solvent pentru toate celelalte componente, atât cele organice, cît și cele minerale.

### XIV.6.1. GAZELE DIN SÎNGE

Gazele din sînge, oxigenul și dioxidul de carbon, sînt parțial dizolvate în plasmă în conformitate cu legea lui Henry, adică proporțional cu presiunea parțială a fiecăruia — la o temperatură constantă. În cea mai mare parte, ele sînt legate chimic de proteina transportoare — hemoglobina (V.3.1.11). Se reamintește că valoarea coeficientului de solubilitate al oxii-



genului în plasmă la 38° este de 0,023 cm<sup>3</sup>/ml, cînd presiunea parțială a oxigenului este de 760 mm Hg (o atmosferă). Din 100 ml sînge se pot extrage 20 cm<sup>3</sup> de oxigen din care, prin calcul ținîndu-se seama de presiunea parțială a gazului în aerul alveolar (102 mm Hg) se deduce că numai 0,031 cm<sup>3</sup> O<sub>2</sub>/ml este dizolvat cea mai mare parte fiind legat cu oxihemoglobină. Solubilitatea dioxidului de carbon în plasmă la 38° este de circa 20 de ori mai mare decît aceea a oxigenului. Cantitatea totală de CO<sub>2</sub> ce se poate extrage din 100 ml sînge, oscilează între 40—60 cm<sup>3</sup> (după cum este vorba de sînge arterial sau venos) din care, circa 1/2 reprezintă gazul dizolvat fizic. Restul de CO<sub>2</sub> din sînge se găsește sub formă de combinații multiple, atît cu hemoglobina în eritrocite, cît și în plasmă cu ioni bicarbonici, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, urme de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> și CO<sub>2</sub> combinat cu proteinele plasmatice (printr-o reacție spontană reversibilă, cu grupările NH<sub>2</sub> din proteine).

Tabel XIV.6

Principalele investigații serice cu valoare diagnostică

Organul lezat	Boala	Enzime, izoenzime Rapoarte enzimatiche
Miocard	Infarct miocardic acut	CPK, izoenzima CPK, MB, 3-glicer aldehid fosfat dehidrogenază, fosforilaza b, LDH total, izoenzima LDH <sub>1</sub> , $\alpha$ -hidroxibutirat dehidrogenază (HBDH), GOT, izoenzima mitocondrială GOT, $\gamma\text{-GT: } \frac{\text{CPK}}{\text{CPK-MB}}, \frac{\text{CPK}}{\text{GOT}}$
Ficat	Hepatopatii acute și cronice	F-1-P-ALD, SDH, OCT, Arginaza, ICD, izoenzima LDH <sub>5</sub> , GPT, GOT, guanaza, urocanaza, GLDH, pseudocolinesteraza, izoenzima mitocondrială GOT, xantin oxidaza, P-ALC: $\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}, \frac{\text{GOT} + \text{GPT}}{\text{GLDH}}$
	Icter obstructiv	Leucinamino peptidaza (LAP), $\gamma$ -GT, 5'-nucleotidaza, izoenzima P-ALC, hepatobiliară
	Stări hemolitice	LDH izoenzima LDH <sub>1</sub> , LDH <sub>2</sub> , GOT, $\frac{\text{LDH}}{\text{GOT}}$ ,
	Cancer primitiv	F-1, 6-difosfataldolaza, F-1-P-ALD, izoenzime fosfataza alcalină-Nagao, Regan în hepatome, LDH <sub>1</sub> , LDH <sub>5</sub> „fetalizarea” modelului izoenzimazic LDH <sub>1</sub> (LDH <sub>1</sub> preponderent)
Prostată	Cancer Cancer cu metastaze osoase	Fosfatază acidă, izoenzima fosfatazei inhibată de acid tartric. Izoenzima osoasă a fosfatazei alcaline.
Pancreas	Pancreatită acută	Amilaza, izoenzima pancreatică a amilazei (cu mobilitate electroforetică $\gamma$ ), lipaza serică.
Parotida	Parotită acută	Amilaza, izoenzima $\gamma$ -amilaza rapidă.
Os	Metastaze osoase Osteomalacie Hipertiroidism Boala Paget	Fosfataza alcalină, izoenzima osoasă a fosfatazei alcaline.
Mușchii scheletici	Miopatii Distrofii musculare	F-1, 6-difosfataldolaza, devierea modelului izo-LDH de la LDH <sub>5</sub> către LDH <sub>1</sub> , CPK izoenzima CPKMM.

## XIV.6.2. ELECTROLIȚII

Substanțele minerale dizolvate în plasmă sînt în stare ionică cu realizarea unui echilibru între anioni și cationi. Datorită echivalenței între ionii cu sarcină pozitivă și cei cu sarcină negativă, concentrația acestor substanțe disociabile se exprimă în miliechivalenți. Repartiția componentelor minerale între plasmă și eritrocite este diferită. Dacă se iau în considerație doi din anionii principali ai acestor compartimente —  $\text{Cl}^-$  și  $\text{HCO}_3^-$  — se poate face următoarea observație cu importanță fiziologică. Pentru compensarea creșterii de ioni bicarbonici ce se produc în eritrocit, o parte din acești anioni sînt transferați în plasmă. Aceștia se combină cu ionii  $\text{Na}^+$  proveniți din  $\text{NaCl}$  plasmatică iar ionii  $\text{Cl}^-$  eliberați pătrund în eritrocit. Deci majoritatea ionilor bicarbonici formați sînt repartizați în plasmă. Această distribuție este în parte și un efect al echilibrului Donnan, eritroplasmatic. În eritrocit componenta anionică este bine reprezentată prin hemoglobină (30 mEq), acid difosfoglicerice (35 mEq) și ATP (2 mEq) care lipsesc în plasmă, unde proteinele plasmactice (15 mEq) reprezintă o mică parte a componentei anionice. Ca urmare, în plasmă se găsește obligatoriu o cantitate mai mare de anioni mai ușor difuzabili decît în eritrocit, în special ionul  $\text{HCO}_3^-$ .

### XIV.6.2.1. Ionograma plasmatică normală

Aceasta însumează 310 miliechivalenți, fiecare categorie reprezentînd 155 mEq. În patologie se pot observa variații cantitative, globale, cu scăderea numărului de miliechivalenți sub 310, precum și variații de repartitie, a fiecărui ion în parte.

Metodica de stabilire a compoziției minerale a plasmelor (ca și a altor fluide biologice) se bazează pe următoarele tehnici: măsurarea rezistivității (inversul conductivității electrice care depinde de concentrația substanțelor ionizate din mediu), prin cromatografie pe rășini schimbătoare de ioni (cationiți, anioniți), urmată de titrare prin fotometrie de flacără, prin spectrofotometrie de absorbție atomică, prin folosirea electrozilor selectivi;

### XIV.6.2.2. Presiunea osmotică a plasmelor sanguine

Presiunea osmotică reprezintă forța de atracție exercitată de o soluție asupra apei pure cînd cele două lichide sînt separate printr-o membrană semipermeabilă. Presiunea osmotică a plasmelor sanguine este proporțională cu numărul de ioni electrolitici și cu cel de molecule de substanțe nedisociate (principal glucoză și uree), dizolvate în plasmă. Electroliții răspund cu 85% din valoarea presiunii osmotice a plasmelor sanguine. Ea se exprimă în



miliosmoli. Un miliosmol reprezintă presiunea osmotică a unei molecule-gram, dizolvată într-un litru de apă (22,4 atmosfere la 0°). Presiunea osmotică se măsoară fie prin dozarea principalilor electroliți și convertirea valorilor de concentrație în miliosmoli, fie prin crioscopie. Această ultimă modalitate se bazează pe relația de proporționalitate directă (liniară) dintre coborîrea punctului de înghețare a unei soluții și presiunea sa osmotică.

Coborîrea punctului de înghețare a plasmelor, notată cu  $\Delta$  este egală cu  $-0,56 \pm 0,01$ . Convertirea acestei valori în miliosmoli se face prin relația:  $\Delta \times 5,4$   $\Delta$  exprimat în 1/100 grad de exemplu  $56 \times 5,4 = 302$  mOsm. Cunoșcînd numărul de miliOsm prin dozarea diferiților ioni, se poate calcula  $\Delta = n \times \text{miliOsm} \times 0,00185$  (în care 0,00185 este coborîrea crioscopice produsă de 1 miliOsm).

#### XIV.6.2.3. Cationii

**Sodiul ( $\text{Na}^+$ )** reprezintă 58—60 mEq/kg corp, totalizînd 4 000—4 200 mEq la un adult de 70 kg. El este cationul umorilor, atîngînd în plasmă concentrația medie de  $142 \text{ mEq} \pm 2 \text{ DS/l}$  sau 152 mEq/l de apă plasmatică. Sodiul plasmatic reprezintă 15% din sodiul ușor difuzabil al organismului (ce se determină prin metode radioizotopice). Concentrația  $\text{Na}^+$  fiind mai mare decît a celorlalți cationi, el este și principalul factor al reglării presiunii osmotice și echilibrului acidobazic. Între concentrația ionului  $\text{Na}^+$  (extracelular) și aceea a ionului  $\text{K}^+$  (intracelular) există un echilibru ce se realizează printr-un mecanism de transport activ la nivelul membranelor celulare, așa numita „pompă de electroliți”. Perturbările concentrației ionului  $\text{Na}^+$  depind în special de repartiția apei din diferitele compartimente. Se cunosc stări de hiponatremie, cît și de hipernatremie. Fiziopatologic sînt stări de hiponatremie de diluție și de depleție. Hipernatremiile se realizează prin lipsa de apă sau exces de  $\text{Na}$ , exces de eliminare a apei, fără eliminare de  $\text{Na}$ .

**Potasiul ( $\text{K}^+$ )** este cationul spațiilor intracelulare reprezentînd 90% din  $\text{K}$  total al organismului (150 grame corespunzător la 3 500 mEq la adultul normal de 70 kg). În plasmă cantitatea de  $\text{K}$  este de 125—135 g, concentrația sa fiind de numai  $4,7 \text{ mEq} \pm 2 \text{ DS/l}$  plasmă. Valorile extreme fiind 3,8—5,4 mEq/litru, mai bine de 90% din potasiul total al organismului este ușor difuzabil.

*Ca variații patologice se cunosc hipokalemii și hiperkalemii. Hipokalemia se traduce clinic prin tulburări neuromusculare și cardiace asociate cu alcaloza metabolică. Hipokalemii se întîlesc în sindroamele digestive chirurgicale (obstrucție intestinală înaltă, stenoză pilorică), cu cloropenie, alcaloză, azotemie extrarenală sau în sindroamele toxice din gastroenteritele acute ale sugarului. De asemenea, în cursul tratamentelor cu sulfamide inhibitoare ale anhidrazei carbonice (acetazolamidă), diuretice mercuriale sau din seria clorotiazidelor precum și în aplicarea dializei peritoneale sau în rinichiul artificial. În hiperaldosteronism se produce alcaloza hipokalemică, ca și în sindromul Cushing, hipokalemia hipocloremică. Se cunosc și hipo-*

kalemii de cauză metabolică în coma diabetică, coma hipoglicemică și paralizia periodică familială. Hiperkalemia, mai rară dar mai gravă decât hipokalemia, se instalează insidios și poate ajunge la accidente grave, adesea ireversibile, cu paralizie fără abolirea reflexelor și oprirea inimii în diastolă. Se poate produce prin insuficiență corticosuprarenală, insuficiențe renale grave post traumatiche, în sindroamele hemolitice sau prin tulburarea ereditară numită adinamie episodică ereditară (Garnstop).

**Calciul.** Conținutul plasmatic în calciu este de 4,5—5,5 mEq sau 2,3—2,75 m moli (90—110 mg/l). Conținutul total de  $\text{Ca}^{2+}$  al unui adult de 70 kg este de 1 100—1 500 g. Concentrația plasmatică a  $\text{Ca}^{2+}$  este remarcabil de fixă. Cationul este reprezentat în trei fracțiuni: a) fracțiunea ultrafiltrabilă ionizată reprezentând 60% din total, fiind forma activă implicată în osificare, coagulare, excitabilitate neuromusculară; b) fracțiunea ultrafiltrabilă neionizată reprezentând 4% din total în care este fixat în combinații saline sau complexe nedisociabile; c) fracție neutră filtrabilă 36% din calciul total sub formă de proteinat de calciu, în special, în albumină serică. Determinările se fac prin metodele indicate la determinarea — în general — a ionilor, la calciu rămânând menționată și posibilitatea de dozare chimică să fie complexonometrică. Aplicarea spectrofotometrii de absorbție atomică pentru dozările de calciu cere adăugarea de triclорură de lantan.

**Variații patologice** se cunosc sub formă de hipocalcemii și hipercalcemii. În patologia umană a adultului și mai ales a copilului, hipocalcemia este legată de sindromul de tetanie. Se întâlnesc hipocalcemii în insuficiența paratiroidiană, lipsa de vitamina D, sau în rahitismul rezistent la vitamina D, când are loc scăderea sintezei de 1,25-dihidroxicolecalciferol; în osteodistrofia renală sau în creșterile de tireocalcitonina. Hipercalcemii se întâlnesc în distrugerile osoase, mielomul multiplu, osteoliza malignă, hiperparatiroidism, boala băutorilor de lapte, sarcoidoza, osteoporoza de mobilizare.

**Magneziul** ajunge în plasmă la o concentrație de 1,5—1,83 mEq/l sau 0,7—1,2 m moli/l. Conținutul total al organismului uman adult este de 823—1 235 m moli magneziu. Magneziul plasmatic este 70% ultrafiltrabil, restul fiind legat de albumine,  $\alpha_1$  și  $\alpha_2$  globuline. Variații patologice se cunosc prin scăderi determinate prin tulburări de resorbție, pancreatită, ciroze, alcoolism, hiperaldosteroidism. Concentrația plasmatică a magneziului crește în coma diabetică, uremie, sindromul Cushing. Metodica de dozare a magneziului are la bază colorimetria, cu folosirea unei reacții dintre magnezin și anumite substanțe organice precum și spectrofotometria de absorbție atomică.

#### XIV.6.2.4. Anionii

**Clorul** este cel mai important anion al compartimentului extracelular, concentrația sa plasmatică normală fiind — în medie — 104 mEq  $\pm$  DS/l. Între clorul global și cel plasmatic există un raport constant = 0,52 (mult explorat în trecut). Concentrația clorului urmează pasiv modificările de concentrație ale ionilor de  $\text{Na}^+$ . Se cunosc hipocloremii prin alcaloză metabolică, hiperclorremii prin acidoză metabolică. Este interesant deci de urmărit



suma concentrațiilor ionilor de clor și ionilor dicarbonat. Metodica de dozare este în special titrimetrică cu folosirea sărurilor de mercur. Metoda clasică, bazată pe folosirea nitratului de argint, este pe cale de a fi părăsită.

**Fosforul\***. Fosforul din plasmă este alcătuit din componente minerale și organice. Componentele minerale sînt reprezentate de ortofosfații mono- și dimetilici. La pH 7,4, 80% din fosfații anorganici se găsesc ca  $\text{HPO}_4^{2-}$ , iar restul ca  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ . Pe lângă fosfații ionizați se găsește și o cantitate mică de fosfat tricalcic nedisociabil. Concentrația fosforului plasmatic este de 2 mEq corespunzător la 0,8—1,48 mmoli sau 25—40 mgP/l. La copil sugar și adolescent, valorile sînt mai ridicate (40—65 mgP/l sau 1,3—2,1 milimoli P/l, respectiv 40—52 mg P/l sau 1,3—1,7 mmoli). Important pentru mecanismele de reglare ale echilibrului fosfo-calcic este faptul că o creștere a fosfatemiei are drept consecință imediată o scădere a calcemiei. Fosforul plasmatic se dozează colorimetric pe baza reacției de formare a albastrului de molibden sau prin formarea complexului fosfo-molibdovanadic. În ultimul timp se utilizează și formarea de complecși cu diferiți coloranți (verde malachit, brilliant-grün). Se produc hiperfosfatemii în insuficiențele renale, hipoparatiroidism, supradozare de vitamina D, osteoporoză, osteogeneză imperfectă, acromegalie hipertireoză. Hipofosfatemii apar prin tulburări de resorbție și rahitism primar.

**Sulfur** se găsește în plasmă sub mai multe forme, care însumate alcătuiesc sulfurul total, corespunzător unei concentrații de 1,40 g/l. Partea majoră a acestuia este reprezentată de acizii aminați, tiolofori, din proteinele sanguine. Sulfurul neproteic care are concentrația cuprinsă între 0,07—0,10/l de plasmă (sau sînge total) cuprinde două fracțiuni: sulf neutru (acizi aminați sulfurați și derivați cu grupare tiol) și sulf oxidat (sulfatul, esterii sulfurici). Nivelul sulfurului din sulfati este cuprins între 0,01—0,03 g/l. În ionogramă sulfatii reprezintă un mEq. Se cunosc variații ale sulfatului în sensul creșterii.

#### XIV.6.2.5. Oligoelemente

**Fierul**. Sideremia normală are valoare medie 120  $\mu\text{g}$  cu valori extreme 70—170  $\mu\text{g}\%$ . Nivelul de concentrație are variațiile sale circadiene — prin scăderi vespérale cu circa 30  $\mu\text{g}\%$ . Variațiile patologice au fost prezentate la 5.3.2.3. Se dozează prin reacția cu batho-fenantrolină-sulfonată.

Sideremia acoperă o treime din capacitatea de legare în transferină reprezentînd numai o mică parte din fierul total al organismului (3—5 g). Se reamintește aici un test important pentru practica medicală, anume cel legat de tratamentul cu desferi-oxamină (desferal).

După injecția intramusculară a 500 mg de desferi-oxamină, se formează un chelat cu Fe, care se elimină în urină. La normal se elimină 13,41  $\mu\text{mol}$

\* În practică se folosesc doi termeni: fosforemia și fosfatemia ce corespund celor două moduri de exprimare a rezultatelor în P (element) sau în fosfați (sarea). De obicei, prin termenul fosforemie se exprimă compusii fosfatici.

Fe (0,75 mg)/6 ore. În hemocromatoză primară se elimină peste 89,4  $\mu$ mol (5 mg) Fe, iar în hemosiderozele simptomatice, în jur de 35,8 m moli (2 mg) Fe/6 ore. În anemiile aplastice și sideroacrestice se remarcă supraîncărcarea eritroblaștilor, a celulelor reticulocitare și a organelor cu Fe; de asemenea se observă resorbție crescută în hemacromatoze — cea primară, genetic determinată — sau cele secundare.

În patogenia variațiilor sideremiei pot fi menționate următoarele cauze: hiposideremii uterine (meno-și metrorargii), hemoragii din testicul, gastro-intestinale (inclusiv hemoroizii), tulburări de resorbție a Fe, pierderi de transferină (renale sau entereale), tulburări de distribuție a Fe în intestin sau neoplazice, încetinirea mobilizării Fe din depozite către transferină, supraîncărcarea cu Fe a SRH. Hipersideremii se observă în ciroza hepatică cu pierderi de feritină, în tulburări de utilizare a Fe în sinteze ca în anemiile aplastice și sideroacrestice, supraîncărcarea eritroblaștilor, celulelor, reticulocitelor și a organelor cu Fe.

Cuprul aflat în ser reprezintă o mică parte din totalul de 100—150 mg de care dispune organismul. Concentrația sa este de 11,66—23,61 m moli/l, adică 850—1 500  $\mu$ g/l la bărbați, iar la femei 700—1 400  $\mu$ g/l. Principalul deținător de cupru plasmatic este ceruloplasmina (vezi 5.3.2.2.). Cuprul plasmatic este în echilibru cu cel inclus în enzime (peroxidază, tirozinază,  $\delta$ -amino-levulinic-dehidrogenază). Metodica de dozare este bazată pe spectrofotometrie de absorbție atomică, colorimetrie și folosirea de electrozi selectivi.

În colorimetrie se utilizează reacția ionului cupros cu batocupreină (sarea disodică a acidului 2,9-difenil-1, 10-fenantrolina disulfonică): în urma reacției se dezvoltă culoarea roșie gălbuie. Alți reactivi pentru cupru monovalent sînt: cuprinzona, 1,5-difenil-carbodihidrazida, dietilditiocarbamatul Na. Dintre variațiile patologice ale cuprului, cele mai importante sînt cele din boala Wilson. Se mai cunoaște și așa numita boală ereditară a părului încrețit cu transmisie recesivă legată de cromozomul X.

Zincul din ser se află în concentrație de 122—214  $\mu$ mol/l (0,80—1,40 mg/l), reprezentînd o mică parte din conținutul total de 2—3 g al organismului. Concentrația serică a Zn este de 10 ori mai mică decît cea eritocitară care, la rîndul ei, este depășită cu mult de cea leucocitară. Zn plasmatic este structural legat de  $\alpha_2$ -macroglobuline ca și de unele enzime plasmatic (fosfataza alcalină, GLDH, carbonicanhidraza, uricaza) și formează complexe cu hormoni proteici (insulină, ACTH). Ca metode de dozare se cunosc variante, bazate pe analiza de activare neutronică, spectrofotometria de absorbție atomică, metode chimice cu rezultate nereproductive. Variațiile patologice sînt mai puțin cunoscute. Se produc scăderi în: sarcină, boli infecțioase cronice (TBC, lepră), precum și creșteri în reumatismul acut și stările de hemoliză.

Nichelul și cobaltul sînt, în ultimul timp, studiate cuplat cu patologia bolilor cardio-vasculare.

Nichelul se găsește în plasmă în cantitate de 0,002—0,0238 moli (1,2—4,6  $\mu$ g/l), legat de albumine și  $\alpha_2$ -macroglobuline. Variațiile patologice care au atras atenția — în mod special — sînt creșterile din infarctul miocardic acut. Se cunosc scăderi în ciroza hepatică și uremie. Metodologia cea mai recomandată se bazează pe spectrofotometrie de absorbție atomică.



**Cobaltul:** În ser este vehiculată o cantitate de 0,02—0,61 moli (1,2—36 µg)/litru. Elementul este legat ca ion în vitamina B<sub>12</sub> (vezi cap. III), funcționând ca efector al multor enzime (activator sau inhibitor), în funcție de concentrație. CO se dozează prin spectrofotometrie de absorbție atomică sau analize cu activare neutronică. Deși din punct de vedere biochimic cobaltul este puțin studiat, se cunoaște însă bine acțiunea sa cardiotoxică.

## XIV.7. COMPONENTE ORGANICE CU GREUTATE MOLECULARĂ MICĂ

### XIV.7.1. SUBSTANȚE AZOTATE NEPROTEICE

#### XIV.7.1.1. Azotul neproteic

Substanțele azotate neproteice reprezintă produși intermediari sau finali ai proceselor metabolice. Considerate în ansamblu, aceste substanțe alcătuiesc așa-numitul azot neproteic ce cuprinde: uree (50% din total), acid uric, creatină, creatinină, aminoacizi, amoniac, nucleotide, purine, polipeptide. În azotul neproteic se poate să fie cuprinse și glicoproteine (ca orozomucoïdul perclorosolubil). Evaluarea azotului neproteic se face în filtratul obținut prin defecarea serului sau plasmiei (cu acid tricloracetic, acid percloric, acid fosfor-tungstic, acid sulfuric, hidrat de zinc, acid sulfosalicilic, solvenți organici ca alcool etilic, acetonă).

Diferența între azotul neproteic plasmatic și azotul ureic constituie așa-numitul azot restant (sau rezidual). Concentrația azotului neproteic variază între 20—35 mg%. Se dozează kjeldahlometric sau colorimetric, pe baza reacțiilor de culoare ale amoniacului; în practica medicală curentă metoda nu se mai folosește. Azotul neproteic este crescut în insuficiența renală și azotemiile extrarenale, prin creșterea compensatorie a concentrației ureei, în sindroamele cu tulburări electrolitice.

#### XIV.7.1.2. Ureca

Ureca este produsul final al metabolismului proteic la speciile ureotelice. Ea este produsă în ficat prin ciclul ureogenic. Producerea ureei în ficat face parte din „biosintezele de excreție” reprezentând unul din mecanismele principale de detoxificare a amoniacului. Metodologia de dozare a ureei se bazează pe o reacție enzimatică de descompunere a ureei, prin urează, în CO<sub>2</sub> și NH<sub>3</sub>, urmată de reacția de culoare albastră (indofenol) cu hipoclorit-fenol

(Berthelot) sau reacția Nessler (culoare galben-cărămizie); reacție de culoare roșie cu diacetilmonoximă (DAM); gazometric, prin oxidarea ureei cu hipobromito (metoda Kowarsky — Alin Popescu); prin test optic spectrofotometric, cuplat cu reacția auxiliară și reacția indicatoare, din amoniac; acid-oxoglutaric, glutamatdehidrogenază, NADH dependentă; test rapid orientativ de tip urastrat (Goedeke), urănal (Feinchemie-Sebnitz), bazate pe reacții de culoare cu verde de brom-crezol. Se produce creșteri ale ureei în insuficiența renală, degradarea excesivă de proteine, tumori, iradiieri, tratament cu citostatice, tetraciclina, corticosteroizi, aport excesiv de proteine alimentare, sindroame cu dezechilibru hidro-electrolitic (azotemie extra-renală).

#### XIV.7.1.3. Creatina

Creatina are concentrația de 3—7 mg/l (25—35  $\mu$ mol/l), ceea ce reprezintă doar o parte din totalul de 30 mg/l din singele total, eritrocitul fiind de fapt deținătorul principal. Creatina se explorează rar (și mai ales în urină) în atrofiile musculare și hipertireozis. Pentru dozare poate fi folosită reacția enzimatică cu CPK și ATP.

#### XIV.7.1.4. Creatinina

Creatinina (amida internă a acidului metil-guanidinacetic) este cel mai fix constituent azotat al singelui, neinfluențat de alimentație și fiind corelat cu metabolismul muscular. Se dozează prin metoda colorimetrică bazată pe reacția Jaffé, cu acid picric în mediul alcalin. Specificitatea reacției poate fi mărită prin măsurarea intensității de culoare în primele 10 minute, prin defecare, separare pe reactiv Loyd, sau extracție în eter a celorlalte componente Jaffé- pozitive (acid ascorbic, acetonă, acid  $\alpha$ -cetoglutaric, glucoză, barbiturice, bilirubină, acid uric, PAH). Valorile normale sînt cuprinse între 62—97  $\mu$ mol/l (7—11 mg/l); la femei valorile sînt mai mici 44—88  $\mu$ mol/l (5—10 mg/l). Nivelul creatininei serice este un indicator sensibil al funcției renale păstrînd și proporționalitatea cu „Clearance-ul” creatininei endogene.

#### XIV.7.1.5. Acidul uric

După cum s-a arătat, acidul uric este de proveniență endo- și exogenă produs final al catabolismului purinic. El are un maxim de solubilitate plasmatică, ce corespunde la 381  $\mu$ mol (64 mg/l), mărit prin legarea cu proteinele. În marea majoritate (99%) acidul uric se găsește sub formă de urați de sodiu iar restul ca acid uric liber. Plasma conține și o glicopro-



teină ce leagă urații. Concentrația normală a acidului uric în plasmă este de 356  $\mu\text{mol/l}$  (60 mg/l) la femei și 386  $\mu\text{mol/l}$  (75 mg/l). Patologic, se produc variații ale concentrației acidului uric din plasmă: hiperuricemii — primare (sau înăscute) și secundare — și mult mai rar hipouricemii. Dintre hiperuricemiile primare pot fi reținute două: guta care se produce prin creșterea sintezei de acid uric cu scăderea capacității de legare a uraților la proteinele plasmatică și eliminării urinare. Ea se asociază cu predispoziția la litiaza urică sau cu hiperlipoproteinemia de tip IV, cu ateroscleroza prematură. A doua manifestare înăscută a hiperuricemiei este sindromul Lesch-Nyhan, boală metabolică ce apare în special la băieți, fiind determinată prin deficitul de hipoxatin-guanin-fosforibozil-transferaza. Concentrația acidului uric plasmatic crește sau rămâne în limite normale, dar concentrația în LCR este mult crescută. Hiperuricemiile secundare se produc prin hiperproducție de acid uric, leucoze, policitemie, cură de slăbire, limfogranulomatoză, plasmocitom. În scăderea eliminărilor renale (insuficiență renală) sau hipertrigliceridemie, prin medicamente, scăderea clearance-ului, prin clorotiazidă, spironolactonă sau degradarea nucleoproteică ridicată (tratament cu busulfan, mercaptopurine, vincristin) sau administrare de medicamente cu acțiune nefrotoxică (gentamicină, fenotiazină, triameter), catabolism purinic crescut. Hipouricemiile sînt rare; se cunoaște însă defectul enzimatic înăscut în hipouricemia cu xantinurie prin defecte de xantinoxidază.

Metodica de dozare a acidului uric în ser este principal, colorimetrică, avînd la bază fie reacții chimice cu formare de albastru de wolfram, fie reacție enzimatică cu uricază urmată de reacție cromogenă auxiliară. Aceasta are la bază oxidarea unui cromogen de către  $\text{H}_2\text{O}_2$  generată de prima reacție, cea enzimatică.

#### XIV.7.1.6. Amoniacul și aminoacizii

a) *Amoniacul plasmatic* provenit din degradarea componentelor azotate: proteine, baze purinice și piridinice, aminoacizi — ce se găsește liber în plasmă, în concentrații foarte mici 29  $\mu\text{mol/l}$  (660 mg/l). Patologic, concentrația amoniacului plasmatic crește în encefalopatia provocată, prin suprimarea funcției detoxifiante a ficatului și în însîngerările gastrointestinale prin creșterea putrefacției intestinale. În patologia ereditară a unor aminoacizi (deficit enzimatic localizat în ciclul ureic) se produc creșteri. Metodica de dozare: colorimetric cu reactiv Berthelot (sau Nessler) sau test spectrofotometric (reacția auxiliară cu acid  $\alpha$ -cetoglutaric GLDH și NADH).

b) Nivelul de concentrație plasmatică a *aminoacizilor liberi*, exprimă echilibrul dintre aportul alimentar, utilizarea aminoacizilor în biosinteze — proteine, pirimidine, catecholamine, creatină, porfirine și alți compuși azotați — degradarea lor — prin dezaminare oxidativă, transaminare, decarboxilare, eliminarea în circulație și eliminarea renală. Concentrația plasmatică a acizilor aminați liberi este de ordinul 200 mg/l. În tabelul XIV.7 sînt indicate concentrațiile aminoacizilor liberi în plasmă. Variațiile patologice ale acestora țin, în bună parte, de erorile înăscute ale metabolismului, încadrîndu-se în sindroame de mare severitate, asociate de cele mai multe

## Concentrația aminoacizilor plasmatici liberi (în mg/l)

Aminoacidul	nou născut		Adult	
	Valoare medie	Limite	Valoare medie	Limite
1	2	3	4	5
Alanina	29,4	21,0—36,5	30,7—	22,2—44,7
$\beta$ -Alanina	1,3	—	0,8	—
Acid $\alpha$ -aminobutiric	1,5	0,6— 3,0	1,7	1,0—2,4
Arginina	9,1	3,8—15,3	14,3	8,6—26,3
Aspargina	6,1	—	5,7	—
Acid aspartic	1,1	urme 2,2	2,2	urme 7,2
Etanolamină	3,2	1,6— 5,6	0,1	urme 0,7
Citrulina	2,8	1,5— 5,0	5,3	2,1— 9,7
Cisteină	14,7	8,5—20,2	11,7	11,5—33,7
Fenilalanina	13	6,9—18,2	9,5	6,2—19,2
Glutamina	112	79,0—140	83,0	61—102
Acid glutaminic	7,6	3,0—15,7	8,6	2,5—17,3
Glicina	25,8	16,8—38,6	17,4	10,8—36,6
Histidina	11,9	7,6—17,7	12,4	9,7—14,5
Hidroxiprolina	4,2	—	9,2	0,69—1,20
Izoleucina	5,2	3,5—6,9	7,1	4,6—11,5
Leucina	9,5	6,1—14,3	13,2	9,3—17,8
Lizina	29,3	16,7—39,3	25,4	21,1—30,9
Metionina	4,4	1,3—6,1	3,2	2,3—3,9
Ornitina	12,1	6,5—20,0	9,2	4,3—16,7
Prolina	21,3	12,3—31,9	27,1	12,8—51,4
Serina	17,2	9,9—25,5	11,8	6,8—20,3
Taurina	17,6	9,3—27,0	8,3	5,6—17,3
Tirozina	12,6	7,6—18,0	9,1	6,5—11,3
Treonina	25,9	13,6—39,9	19,4	12,2—29,3
Triptofan	6,5	urme 13,7	9,8	5,1—14,9
Valina	16	9,4—28,8	19,9	13,6—26,6

ori cu debilitate mintală și incompatibile cu viața. Ca patogenie, hiperaminoacidemiile se produc prin inhibiția sistemului de transport tubular sau tulburare generalizată a funcției tubulare sau deficit enzimatic strict localizat. Mecanismele de transport se pot tulbura, fie pentru un anumit grup specific (aminoacizi bibazici, iminoacizi), fie pentru unul singur (lizina, cistina, glicina). În aminoaciduriile prin defect tubular, nu se schimbă nivelul plasmatic al aminoacizilor. Metodica de studiu este bazată pe: cromatografie pe hirtie sau în strat subțire pe plăci de celuloză. Ca revelatori se folosesc: ninhidrina (culoare violet), izatina (culoare albastruie), acidul sulfanilic diazotat sau reactivul Pauli pentru tirozină și histidină (culoare roșie); cromatografie pe schimbători de ioni (procedee automatizate).

## XIV.7.1.7. Polipeptide

Polipeptidele se găsesc în cantitate mică în plasmă, provenind din degradarea incompletă a proteinelor. Exprimate în N-polipeptidic, conținutul plasmatic al lor este 3—4 mg%. Această concentrație crește după arsuri



grave, întinse sau în șocul postoperator. Polipeptidele se dozează prin metoda „dublului azot“ (după Kjeldhalizare). În prezent asemenea analize sînt foarte rar solicitate.

#### XIV.7.1.8. Bilirubina

Bilirubina este alcătuită în mare proporție (80 %) din bilirubina primară, neconjugată, legată de albumină și parțial de complexul albumină-fosfatide (în proporții mai mici de peptide aminoacizi). Bilirubina directă, mono- și diglucuronată (prin acțiunea UDP-glucoronil-transferazei la nivelul ficatului), este în concentrație mică în plasmă. Concentrația normală în plasmă a bilirubinei totale se ridică pînă la 17  $\mu$ mol/l (10 mg); din care 1/5 este directă. Variațiile patologice sînt indicate în Cap. XVI. Metodica de dozare este principal colorimetrică (pe baza reacției de cuplare cu reactivul diazoacid sulfanilic) cu formare de azobilirubină, roșie în mediu acid, albastră în mediul alcalin, sau prin reacție cu 2-Cl-4-nitro-anilină diazotată.

### XIV.7.2. SUBSTANȚE ORGANICE NEAZOTATE

#### XIV.7.2.1. Glucoza

Nivelul plasmatic al glucozei este o rezultată a complexului mecanism homeostatic în care intervin factori endocronoenzimatici. Glucoza plasmatică se găsește sub formă dializabilă, fie ca glucopiranoză, fie ca glucofuranoză (după unii autori). O foarte mare parte este legată de moleculele proteice, constituind așa numitul zahăr protidic. Glucoza plasmatică provine din alimentație, glicogenoliză (ficat, mușchi), gluconeogeneză (ficat, rinichi). Nivelul normal al concentrației glucozei în plasmă, este stabilit în funcție de dozare, bazat fie pe oxidoreducere, fie pe reacția enzimatică cu glucozoxidază. Metodele bazate pe reacții de oxidoreducere dau valori normale cuprinse între 700—1 200 mg/l iar cele enzimatice specifice 600—900 mg/l valorile acceptate ca normale (media diferitelor variante), sînt: 600—1 000 mg/l sau 33,3—5,55 mmol/l. Valori mai mari de 1 300 mg/l sau 7,22 mmol/l aduc suspiciuni de diabet. Variațiile patologice descrise se manifestă principal în diabetul zaharat, iar hipoglicemiile se pot întîlni în: hiperinsulinism, hipoglicemia familială, sensibilă la leucină, tulburări de resorbție renală (fără hiperinsulinism), boli de ficat (scăderea glicogenogenezei și gluconeogenezei), insuficiență suprarenală, deficit de fructozo-1-fosfat-aldoză sau fructozo-1,6-difosfat-aldolază, galactozemii, glicogenoze, și în unele procese neoplazice (heptoame, tumori ale corticalei suprarenale, teratoame). Metodica de dozare se bazează în special pe reacții de oxidoreducere (Folin-Wu,

Hagedorn-Jensen); dozările sînt influențate de medicamente ca : penicilina, streptomicina, tetracilinele precum și de metaboliți ca : glutatiunul, acidul uric, corpii cetonici, creatinina, creatina. Metodele bazate pe oxidoreduceri dau valori mai ridicate pentru glicemie decît cele obținute prin metode enzimatiche. Metoda cu ortotoluidină, internațional standardizată, este bazată pe formarea, în mediu acid, a hidroximetil-furfurolului provenit din glucoză care se condensează cu ortotoluidina. Din reacție rezultă un compus colorat în verde. În locul ortotoluidinei au fost folosite și alte amine aromatice (anilina, xilidina).

Metode enzimatiche : a) cu glucoxidază în care D-glucoza se transformă în gluconolactonă ce trece în acid gluconic cu producere concomitentă de  $H_2O_2$ . Deoarece în soluție glucoza este în proporție de 36% în formă  $\alpha$  și în proporție de 64% în formă  $\beta$ , preparatele de glucoxidază conțin și mutarotaza care aduce toată glucoza în formă  $\beta$ . Peroxidul de hidrogen ( $H_2O_2$ ) este descompus prin peroxidază, oxidînd un indicator (donator de H) cromogen. Dintre acești indicatori redox se folosesc : O-dianizidina (O-tolidina)\*, sau fenol-4-amino-fenazona sau acid 2,2'-azino-di-(-3-etil-benzotiazolin-sulfonic)\*\* ; b) metoda cu hexokinază și GL6PDH, NADP dependentă ca test optic ; c) metoda cu hexokinază, cuplată cu entalpietrie ; d) teste rapide (tip Haemo-Glukotest, Dextrostix, Dextronal) bazate pe reacția cu glucoxidază.

#### XIV.7.2.2. Compuși lipidici

Principalele componente lipidice au fost prezentate anterior, datele referindu-se la următorii constituenți : colesterol, trigliceride, acizi grași liberi, fosfatide. În cele ce urmează sînt redată unele aspecte legate de principalii derivați ai colesterolului și anume *acizii biliari*. Ei se găsesc în serul normal în concentrații foarte mici și variabile cu metoda. Acizii : colic, dezoxicolic și chenodezoxicolic ating în ser concentrații cuprinse între 0,4—7 mg/l. Ca și în bilă, acizii biliari din ser sînt în majoritate conjugați cu taurina și glicocolul. Creșterea concentrației lor în ser se produce atît în icterele obstruative — prin obstacol extra- sau intrahepatic — cît și în icterele hepatocelulare.

*Metodica de investigare* este laborioasă. După extracție etanolică din ser se poate aplica cromatografia în străt subțire, pentru separarea de celelalte componente lipidice. Pentru studii de mare precizie se aplică cromatografia în fază gazoasă, după derivatizarea lor ca trimetilxililesteri. Controlul datelor se poate face și prin spectrometria de masă. În chimia clinică se practică dozarea prin colorimetrie, pe baza reacției cu culoare cu acid sulfuric sau se aplică spectrofotometria, ca test optic cu 3  $\alpha$ -hidroxiteroid-dehidrogenaza. Dozarea evaluează totalitatea acizilor 3 $\alpha$ -hidroxibiliari, cu 19, 21 sau 24 atomi de carbon.

\* În ultimul timp se folosește tetrauretii-benzidina.

\*\* Prescurtat ABTS.



#### XIV.7.2.3. Acizii organici

**Acidul lactic.** Acest important produs al glicolizei anaerobe este prezent în ser în concentrație de 1—1,5 mEq/l sau 9—15 mg/100 ml. Valorile de concentrație sînt în funcție de metodă și de starea de repaus sau de efort care a precedat prelevarea singelui. Provine mai ales din eritrocite și din mușchi, elemente cu intensă glicoliză anaerobă. Se cunosc creșteri în hepatopatii, insuficiența cardiacă sau după eforturi fizice foarte grele.

**Metodica de dozare:** colorimetric, prin transformarea acidului lactic în acetaldehidă, care formează, în prezența ionilor de Cu, un complex colorat cu parahidroxi-difenilul; spectrofotometric prin test optic cu LDH-NAD dependentă, piruvatul fiind captat prin transformare în hidrazonă, iar H<sup>+</sup> într-un tampon puternic alcalin.

**Acidul piruvic.** Deși acest acid reprezintă o „placă turnantă” a metabolismului intermediar (glucido-lipido-proteic) el are o concentrație mică de 0,9—1,2 mg % sau 0,146—2 mMoli/l. Crește în deficiența de vitamina B<sub>1</sub> în cursul exercițiilor fizice grele și în alcoolism. În hipoxie este convertit în acid lactic.

**Metodica de dozare:** colorimetric, prin metoda hidrazonelor; spectrofotometric prin test optic cu LDH și NADH<sub>2</sub>.

**Acidul guanidino-succinic** se găsește în ser în concentrații ce pot atinge 1 mg/l. Crește mult în insuficiența renală, nivelul său atingînd 90 mg/l. Se poate separa cromatografic și doza prin reacția Sakaguchi cu  $\alpha$ -naftol și hipoclorit de sodiu (culoare roșie).

#### XIV.7.2.4. Corpii cetonici

Normali sînt prezenți în organism în concentrație foarte mică. Acetil-acetatul are concentrația cuprinsă între 18—78  $\mu$ mol/l iar  $\gamma$ -hidroxi butiratul între 58—170  $\mu$ mol/l. Valoarea globală a corpiilor cetonici serici, exprimați în acetonă este de 1,5—35 mg %. Creșteri însemnate sînt determinate prin scăderea glucozei intracelulare sau a utilizării sale (diabet, inanție). Metodica de dozare este principal colorimetrică, bazată pe reacția de culoare roșie pe care acetona o dă cu aldehida salicilică. Se formează disalicilacetona, din acetona preexistentă, cît și din cea produsă din acidul acetil-acetic și din acidul  $\gamma$ -hidroxi-butaric prin decarboxilare și respectiv prin oxidare.

Deoarece în biochimia medicală modernă se conturează tendința introducerii noilor unități de măsurare cu exprimare în m moli și  $\mu$  moli a componentelor biologice, în tabelul XIV.8 sînt redate principalele componente plasmatic, exprimate în acest mod, inclusiv factorii de transformare reciprocă, între aceștia și vechile unități de greutate.

**Principalele componente plasmatice exprimate în unități de greutate și în noile unități de măsură în moli/l și  $\mu\text{mol/l}$  (SI).**

Componente	Valori normale în unit. de greutate/ 100 ml	Factorii de transformare $V_g \rightarrow V.mol$ $U.G. \leftarrow U.mol$	Valori normale în unități molare
<b>Cationi</b>			
$\text{Na}^+$	315–340 mg	$0,435 \rightarrow$ $\leftarrow 2,30$	137–147 mmol/l
$\text{K}^+$	14–21 mg	$0,256 \rightarrow$ $\leftarrow 3,91$	3,6–5,4 mmol/l
$\text{Ca}^{++}$	9,0–10,8 mg	$0,25 \rightarrow$ $\leftarrow 4,01$	2,3–2,7 mmol/l
$\text{Mg}^{++}$	1,9–2,5 mg	$0,411 \rightarrow$ $\leftarrow 2,43$	0,8–1,0 mmol/l
<b>Anioni</b>			
$\text{Cl}^-$	344–395 mg	$0,282 \rightarrow$ $\leftarrow 3,545$	94–111 mmol/l
$\text{P}_i$ adult	2,5–4,8 mg	$0,323 \rightarrow$	0,8–1,6 mmol/l
copil	4–7 mg	$\leftarrow 3,100$	1,3–2,3 mmol/l
<b>Componente organice azotate</b>			
Ureea	20–40 mg	$0,1665 \rightarrow$ $\leftarrow 6,006$	3,3–6,7 mmol/l
Creatinina $\sigma$	0,7–1,1 mg	$88,4 \rightarrow$	62,0–97,0 $\mu\text{mol/l}$
$\phi$	0,6–0,9 mg	$\leftarrow 0,0113$	53,0–80,0 $\mu\text{mol/l}$
Acid uric $\sigma$	2,5–7 mg	$59,485 \rightarrow$	149–416 $\mu\text{mol/l}$
$\phi$	1,5–6 mg	$\leftarrow 0,0168$	89–357 $\mu\text{mol/l}$
Bilirubina totală	$<1$ mg	$17,1 \rightarrow$	$<17,1 \mu\text{mol/l}$
Bilirubina directă	$<0,25$ mg	$\leftarrow 0,0585$	$<4,3 \mu\text{mol/l}$
<b>Componente organice neazotate</b>			
Colesterol	$<260$ mg	$0,0259 \rightarrow$ $\leftarrow 38,7$	$<6,7$ mmol/l
Trigliceride	$<150$ mg	$0,0141 \rightarrow$ $\leftarrow 87,5$	$<1,7$ mmol/l
Glucoză	50–100 mg	$0,0555 \rightarrow$ $\leftarrow 18,02$	2,8–5,6 mmol/l
Piruvat	0,36–0,59 mg	$114 \rightarrow$ $\leftarrow 0,0088$	41–67 $\mu\text{mol/l}$
<b>Oligoelemente</b>			
$\text{Fe}^{++}$ $\sigma$	60–160 $\mu\text{g}$	$0,179 \rightarrow$	10,6–28,3 $\mu\text{mol/l}$
$\phi$	40–145 $\mu\text{g}$	$\leftarrow 5,585$	6,6–26,0 $\mu\text{mol/l}$
Capacitate totală de legare a Fe în transferină (TIBC) $\sigma$	300–400 $\mu\text{g}$	$0,179 \rightarrow$	54–72 $\mu\text{mol/l}$
$\phi$	250–350 $\mu\text{g}$	$\leftarrow 5,585$	45–63 $\mu\text{mol/l}$
$\text{Cu}^{++}$ $\sigma$	70–140 $\mu\text{g}$	$0,1574 \rightarrow$	11–22 $\mu\text{mol/l}$
$\phi$	85–155 $\mu\text{g}$	$\leftarrow 6,355$	13–24 $\mu\text{mol/l}$



## Cap. XV. BIOCHIMIA ȚESUTULUI CONJUNCTIV

### ȘI A ȚESUTULUI OSOS

#### XV.1. ȚESUTUL CONJUNCTIV

Țesutul conjunctiv este cel mai răspândit țesut din organism. El intră, în primul rând, în constituția ligamentelor, cartilajelor, fasciilor, tendoanelor, oaselor, dinților și pielii. Țesutul conjunctiv se află distribuit și în organele moi (ficat, rinichi), fiind localizat între circulația sanguină și celulele funcționale din parenchimul organului respectiv.

##### XV.1.1. STRUCTURA ȚESUTULUI CONJUNCTIV

Țesutul conjunctiv este format din matrice extracelulară și anumite tipuri de celule. La rîndul ei, matricea extracelulară este constituită din proteine fibrilare incluse într-un gel polizaharidic hidratat. Proteinele și polizaharidele matricei interacționează și se asamblează în structuri tridimensionale.

În concepția clasică, se consideră că matricea extracelulară reprezintă numai un suport inert, generat de anumite celule, pe care acestea stau fixate. Actualmente, se știe că există în permanență numeroase legături structurale și funcționale între celulele respective și matrice. Într-adevăr, unele elemente intracelulare direcționează dispunerea macromoleculelor matriceale pe suprafețele celulare și astfel organizează matricea extracelulară. De asemenea, o matrice extracelulară ordonată influențează organizarea și funcționarea celulelor pe care le conține.

### XV.1.1.1. Constituenții matricei extracelulare

#### *Glicozaminoglicanii*

În esență, gelul polizaharidic din matricea extracelulară este constituit din glicozaminoglicani (sau mucopolizaharide acide). Acești componenți, conferă țesutului conjunctiv proprietăți fizice remarcabile (maleabilitate elasticitate, viscozitate) și — de aceea — îndeplinesc diverse și multiple roluri. Însă, cel mai important rol este de a controla deplasările apei și electroliților extracelulari, datorită faptului că glicozaminoglicanii sînt polianioni proveniți din macromolecule cu numeroase grupări acide. Într-adevăr, la multiplele lor sarcini negative, glicozaminoglicanii pot fixa numeroși cationi (activi din punct de vedere osmotic) iar pe seama caracterului lor puternic hidrofil ei pot lega multe molecule de apă.

Principalii glicozaminoglicani din matricea extracelulară sînt: (1) *acidul hialuronic* deosebit de abundent în corpul vitros, lichidul sinovial, tendoane, piele, cordon ombilical; (2) *condroitin sulfatii* localizați, în special, în piele și tendoane; (3) *dermatan sulfatul* din piele, tendoane, valvule cardiace și aortă; (4) *keratan sulfatul* izolat din cornee și cartilajul costal; (5) *heparan sulfatul* aflat în mare cantitate în cornee. Studiul chimic al acestor substanțe a fost făcut anterior, în capitolul privitor la glucide. În completarea cunoștințelor referitoare la acești glicozaminoglicani și pentru a se putea înțelege mai bine rolul lor, se fac unele precizări și în capitolul de față, la constituenții chimici ai țesutului conjunctiv.

#### *Proteinele*

Din matricea extracelulară s-au izolat inițial două proteine: una extrasă cu acizi și alta cu soluții alcaline diluate. Faptul că ambele proteine precipită, în anumite condiții, sub formă de fibre cu proprietăți asemănătoare fibrelor de collagen, a făcut ca ele să fie considerate drept collagen acido-solubil și collagen alcalino-solubil. Acesta din urmă ar putea fi socotit precursorul fibrelor de collagen.

Matricea extracelulară cuprinde și proteine serice, așa cum conține și ioni minerali identici cu ai serului sanguin.

Unele studii efectuate cu ajutorul izotopilor radioactivi au arătat că diversele proteine din matrice prezintă un metabolism foarte intens, stimulat de procese degradative proteolitice. Printre enzimele participante mai frecvent la aceste degradări s-au pus în evidență collagenaza și tripsina.

Este de remarcă că în matricea extracelulară există diverse tipuri de fibre elastice care se deosebesc între ele prin proteinele constitutive: collagen, elastină, reticulină. Aceasta din urmă este o proteină asemănătoare collagenului dar diferă de el prin faptul că cuprinde și multe poliozide. Descrierea proteinelor din fibrele elastice este prezentată în subcapitolul următor la constituenții chimici ai țesutului conjunctiv.



Un fapt demn de relevat cu privire la structura țesutului conjunctiv îl reprezintă strinsa relație dintre fibrele elastice și ceilalți componenți ai matricei extracelulare. Într-adevăr, datorită poziției anumitor constituenți ai fibrelor elastice și ai matricei se pot stabili numeroase legături, ceea ce contribuie — fără îndoială — la rezistența deosebită a țesutului conjunctiv.

### XV.1.1.2. Celulele

În funcție de natura formațiunii căreia aparțin, celulele țesutului conjunctiv au denumiri diferite: *fibroblaști* care predomină în fibrele de legătură; *condroblaști* care generează cartilajele, *osteoblaști* care participă la formarea oaselor.

Fibroblaștii poartă acest nume (provenit din latinescul „fibra” = fibră și grecescul „blastos” = mugur, germene) deoarece în ele se sintetizează componentele fibrilare ale matricei extracelulare; în special, collagenul și elastina. Tot în fibroblaști se sintetizează și alte proteine din matrice: glicoproteine și proteoglicani. Aceste două categorii de proteine sînt considerate drept componentele substanței fundamentale din matrice.

Fibroblaștii sînt celule fixe, de origine locală, ale țesutului conjunctiv. Însă, după cum rezultă din figura XV.1, în țesutul conjunctiv se află și altfel de celule. Printre acestea se remarcă, în primul rînd, macrofagele provenite din monocitele sanguine. Macrofagele migrate în țesutul conjunctiv sînt tot celule fixe. Ele trăiesc în acest țesut cîteva luni și își măresc apreciabil numărul în cazurile de inflamații cronice.

În țesutul conjunctiv se află și celule mobile. Dintre ele fac parte granulocitele (neutrofile, eozinofile, bazofile) și limfocitele. Aceste genuri de leucocite părăsesc ușor sîngele și trec în țesutul conjunctiv, în special, în cazurile de inflamații acute. Mai cu seamă neutrofilele se acumulează în număr mare în țesutul conjunctiv pentru a-l apăra împotriva infecțiilor bacteriene.

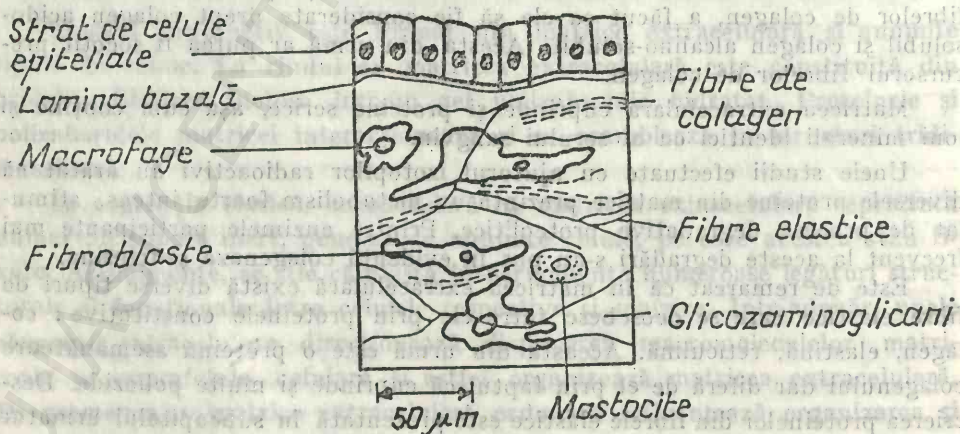


Fig. XV.1 — Structura țesutului conjunctiv.

## XV.1.2. CONSTITUENȚII CHIMICI AI ȚESUTULUI CONJUNCTIV

Din cele menționate la structura țesutului conjunctiv rezultă că principalele substanțe chimice care intră în constituția acestui țesut sînt anumite proteine și anumite glucide. Ele sînt prezentate în cele ce urmează.

### XV.1.2.1. Constituenții proteici

Cele mai importante proteine din țesutul conjunctiv sînt **colagenul și elastina**.

#### Colagenul

Colagenul este cea mai abundentă proteină din organismul uman. El se află în proporții de 25% din totalitatea proteinelor corpului. După cum rezultă din tabelul XV.1, organele moi cuprind puțin colagen; în schimb,

Tabel XV.1

Concentrația colagenului, elastinei și proteoglicanilor polianionici din unele organe (g/100 g țesut uscat)

Țesut	Colagen	Elastină	Proteoglicani anionici
Oase (demineralizate)	88	—	0,8
Oase (în totalitate)	22,8	—	0,2
Tendonul lui Achile	86	4,4	0,5
Piele	71,9	0,6	—
Cornee	68,1	—	4,5
Cartilaj	46—64	—	20,4—37,1
Ligament	17	74	—
Aortă	12,24	28,32	5,9
Plămîni	10	3—7	—
Ficat	3,9	0,16—0,30	—

organele de tipul pielii și tendoanelor conțin colagen mai mult de 70% (din greutatea lor uscată). În cazul osului, deși colagenul reprezintă numai 23% din masa uscată, această cantitate corespunde la aproximativ 90% din matricea lui organică.

Principala funcție a colagenului în organism este de a conferi rezistență și de a păstra integritatea structurală a țesuturilor în constituția cărora

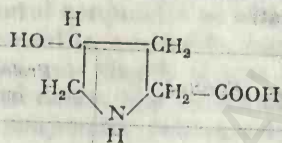


intră. Totodată, collagenul este unicul constituent al organismelor superioare care prezintă rezistență la tracțiune.

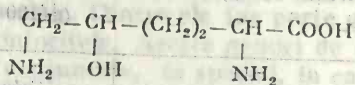
Pe baza unor studii mai vechi, a dăinuit multă vreme părerea că în organism collagenul care se formează în cursul dezvoltării rămâne pentru tot restul vieții. Aceasta revine la a spune că pentru collagen nu ar exista o stare dinamică de reînnoire, așa cum există pentru alte proteine. O serie de cercetări ulterioare au arătat însă că în diverse procese normale (involuția uterului după naștere, vindecarea rănilor) și patologice (scorbut) collagenul este supus unor importante procese metabolice de biosinteză sau degradative. De altfel, cauzele mai multor boli, printre care și ateroscleroza, sînt explicate — în mare măsură — prin modificări survenite în metabolismul collagenului.

a) *Biosinteza collagenului.* Acest proces este astăzi bine cunoscut. Biosinteza collagenului presupune parcurgerea a 10 etape ce se succed într-o secvență bine ordonată și care permit trecerea de la aminoacizi liberi la fibrila de collagen. Aceste etape sînt: (1) asamblarea amino-acizilor; (2) hidroxilarea unor resturi de prolină (prolină) și de lizină (lizil); (3) formarea helixului; (4) glicozilarea; (5) expulzarea din celulă; (6) transportul la fibrila în creștere; (7) transformarea procolagenului în collagen; (8) formarea aldelor; (9) formarea fibrilei; (10) stabilirea legăturilor încrucișate.

Reunirea aminoacizilor are loc în fibroblaști, trecîndu-se prin aceleași etape prin care se biosintetizează toate proteinele. Este caracteristic însă faptul că printre aminoacizii constitutivi predomină glicina (33%), reprezentînd fiecare al treilea rest aminoacidic  $(X-Y-Gli)_n$ . Într-o măsură mai mică (23%) se află prolina iar într-o proporție și mai redusă se găsesc doi aminoacizi atipici: hidroxiprolina și hidroxilizina:



4-hidroxiprolina



5-hidroxilizina

Acești doi aminoacizi atipici provin din prolină și lizină iar hidroxilarea lor se face în prezența anumitor enzime (prolihdroxilaza și lizilhidroxilaza). În ceea ce privește prolihdroxilaza, s-a dovedit că pentru a fi activă enzima necesită prezența oxigenului molecular, a ionilor  $\text{Fe}^{2+}$  și a vitaminei C. (Întreg acest sistem funcționează prin cuplare cu oxidarea  $\alpha$ -ceto-glutaratului la succinat.) Se înțelege, în aceste condiții, că deficiența vitaminei C afectează hidroxilarea și prin urmare, obținerea unui collagen normal.

Procesul de asamblare al aminoacizilor decurge rapid: 200 aminoacizi/minut. Aceasta înseamnă că biosinteza unei catene de 1 000—1 100 aminoacizi are loc în 5—6 minute.

Lanțurile polipeptidice rezultate iau conformația elicei  $\alpha$  și de aceea, se numesc lanțuri  $\alpha$ . Deoarece secvențele de aminoacizi și hidroxilările la

nivelul resturilor prolin și lizil nu sînt identice în toate lanțurile polipeptidice, se constituie — în genere — două feluri de lanțuri  $\alpha$ , numite respectiv — lanțuri  $\alpha_1$  (cu variantele I, II, III, IV) și lanțuri  $\alpha_2$ . Acestea sînt totuși omoloage fiind formate din circa 1 050 resturi de aminoacizi și avînd în multe poziții secvențe identice. Lanțurile  $\alpha$  au masa de 90—95 kdaltoni.

În funcție de tipul lanțului  $\alpha$  constituțional ( $\alpha_1$  sau  $\alpha_2$ ) se deosebesc patru tipuri de collagen cu structurile oligomere și distribuția tisulară menționată în tabelul XV.2.

Tabel XV.2

Tipurile de collagen

Tipul	Compoziția	Distribuția tisulară
I	$(\alpha_1, I)_2 \alpha_2$	Piele, tendon, os, cornee
II	$(\alpha_1, II)_3$	Cartilaj, disc intervertebral, corp vitros
III	$(\alpha_1, III)_2$	Piele fetală, sistem cardiovascular
IV	$(\alpha_1, IV)_3$	Membrana bazală

Este de remarcă faptul că lanțurile  $\alpha$  din constituția oricărui tip de collagen se deosebesc de lanțurile  $\alpha$  din alte proteine fiindcă au pasul mult mai mare (9,3 Å); deci sînt mai „întinse”. Distanța dintre doi aminoacizi măsurată în lungimea elicei este de 3,3 Å față de 1,4 Å din lanțurile  $\alpha$  obișnuite. Această dispunere spațială este impusă de numeroasele resturi de prolină aflate în lanț. Într-adevăr, heterociclurile de prolină strînjesc formarea unei elicei mai „strînse” (cu pasul mai mic). Asocierea a trei lanțuri  $\alpha$  ( $3\alpha_1$  sau  $2\alpha_1$  și  $1\alpha_2$ ) și împletirea lor, unul asupra altuia, tot în formă helioidală au ca rezultat formarea unei elicei triple cu pasul de 28 Å (fig. XV.2). În ansamblu, aceasta este structura unității de bază a collagenului, numită *tropocolagen* (fig. XV.2).

Tropocolagenul se prezintă sub forma unui bastonaș foarte lung (300 nm) și subțire (1,4 nm). În fibrele de collagen moleculele de tropocolagen sînt asociate, atît în lungime cît și în lățime. Pe de altă parte, fiecare moleculă este deplăstă față de cea alăturată cu un sfert din lungimea ei:

În acest fel fibra capătă un aspect striat; cu zone mai clare separate de zone mai întunecate.

La grupele OH din hidroxilizină aflate în unele poziții ale lanțurilor  $\alpha$  se leagă glicozidic resturi constituite din glucoză și galactoză (glicozil-galactoză). Această glicozilare (fig. XV.4) precede expulzarea din celulă.

Collagenul aflat în stadiul de formare intracelulară se numește procollagen. Expulzarea lui din fibroblast are loc printr-un mecanism încă necunoscut.

În spațiul extracelular procollagenul pierde unele resturi peptidice, neîmpletite, de la capătul N-terminal al lanțurilor  $\alpha$  care cuprind porțiuni cu



Fig. XV.2 — Tripla elice a tropocolagenului.

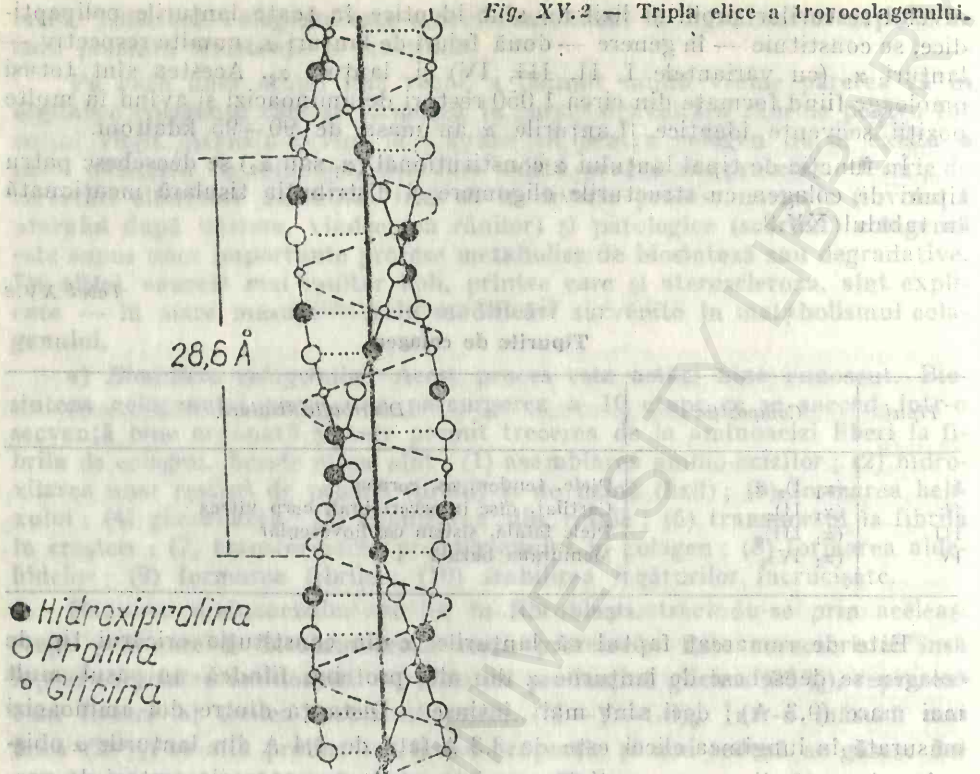
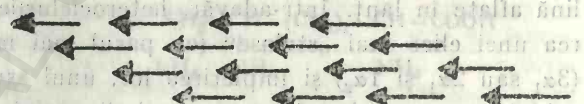


Fig. XV.3 — Asocierea moleculelor de tropocolagen.



Hidroxilizina

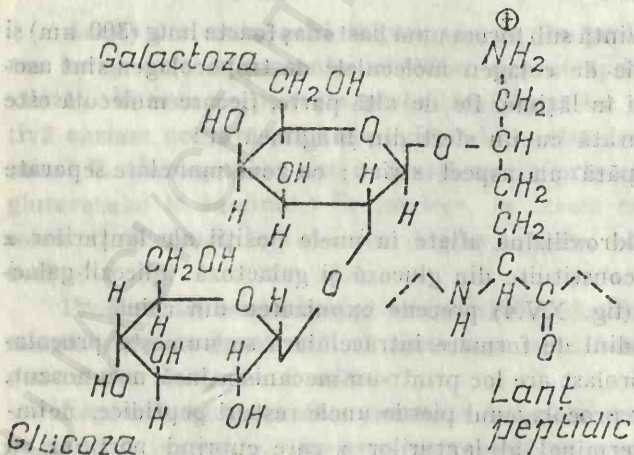
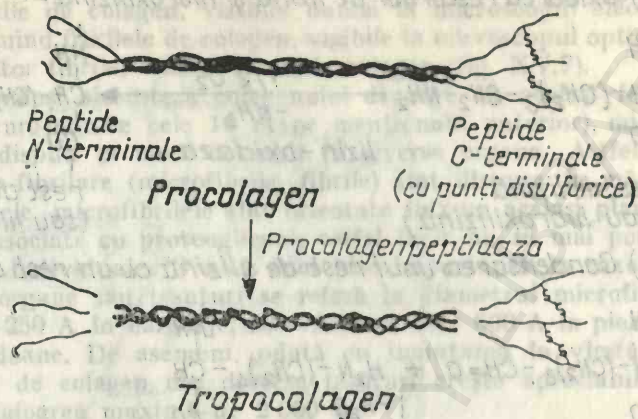


Fig. XV.4 — Unirea entităților dizaharidice cu grupul hidroxil al restului de hidroxilizina din catena polipeptidică.

Fig. XV.5 — Transformarea procolagenului în tropocolagen.



20 resturi de aminoacizi (telopeptide). Îndepărtarea acestor resturi de aminoacizi are loc sub acțiunea hidrolizantă a procolagen-peptidazei (fig. XV.5).

După cum se observă în figura XV.5, odată cu îndepărtarea celor trei peptide N-terminale (fiecare avînd masa de aproximativ 15 Kdaltoni), se îndepărtează și 3-peptide de la capetele C-terminale (fiecare cu masa de aproximativ 30 kdaltoni). Regiunile C-terminale ale celor trei lanțuri  $\alpha$  cuprind legături disulfurice intercatenare. Ulterior, moleculele de tropocolagen rezultate se autoasamblează în microfibrile care se dispun paralel, fiind stabilizate prin legături covalente, încrucișate.

Se poate face o strînsă analogie între formarea fibrelor de collagen și a celor de fibrină. Într-adevăr, procolagenul corespunde fibrinogenului, tropocolagenul monomerului de fibrină iar procolagen-peptidaza corespunde trombinei. În ambele procese sînt necesare clivări proteolitice specifice pentru formarea fibrelor.

Formarea legăturilor încrucișate din microfibrile necesită parcurgerea următoarelor 4 categorii de procese extracelulare;

(1) Oxidarea unor resturi de lizină și hidroxilizină la aldehidele corespunzătoare (alizină și hidroxializină) sub acțiunea enzimei numită collagen-lizin oxidaza care este inactivă față de aminoacizii respectivi cînd se află în stare liberă.

(2) Condensarea aldehidelor formate cu resturi de lizină conducînd la bazele Schiff corespunzătoare.

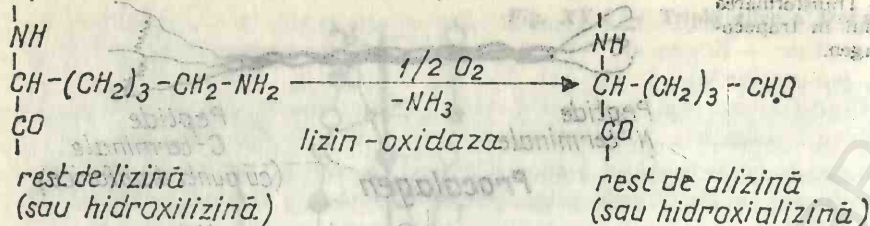
(3) Condensări (aldolică și crotonică) a două resturi de aldehydă.

(4) Condensarea aldehidei de tip crotonic cu resturi de histidină.

Datorită acestor legături încrucișate inter-și intra-moleculare, fibrilele de collagen capătă o mare rezistență mecanică. Este de remarcă că odată cu înaintarea în vîrstă numărul legăturilor încrucișate crește. Pe de altă parte, diversele tipuri de collagen (Tabel XV.2) se deosebesc între ele și prin numărul legăturilor încrucișate precum și prin grosimea fibrelor. Astfel, collagenul de tip I este constituit din fibre mai groase și au un conținut mai redus de hidroxilizină și glucide.



a) -Oxidarea resturilor de lizină și hidroxilizină:



Mai multe microfibrile de collagen, vizibile numai la microscopul electronic, se asociază constituind fibrilele de collagen, vizibile la microscopul optic iar din reunirea mai multor fibrile, rezultă fibra de collagen (fig. XV.7).

Este de remarcă că deși biosinteza collagenului decurge în același fel în toate țesuturile (parcurendu-se cele 10 etape menționate anterior), microfibrilele rezultate se dispun în mod deosebit în diverse organe. Astfel, în tendoane formațiunile fibrilare (microfibrile, fibrile) sînt dispuse în mănunchiuri paralele; în piele, microfibrilele sînt orientate într-un același plan iar în cartilaje ele sînt asociate cu proteoglicani, astfel încît nu se mai pot recunoaște microfibrilele individuale. O altă deosebire importantă în cazul collagenului din diverse organe sau țesuturi se referă la diametrul microfibrilelor: el este de 150—250 Å în cartilaje, 300 Å în cornee, 600 Å în piele și 300—1 200 Å în tendoane. De asemeni, odată cu înaintarea în vîrstă, diametrul microfibrilelor de collagen din diverse țesuturi crește apreciabil, putînd ajunge pînă la valoarea maximă de 2 000 Å.

b) *Colagenoliză*. Collagenul izolat din diverse țesuturi se reînnoiește în perioade variabile de timp, în funcție de organul căruia aparține. Astfel, studiile cu izotopi radioactivi făcute pe șobolani au dovedit că timpul de înjumătățire al collagenului din piele este de 200 zile, al celui din mușchi de 60 zile și al celui din ficat de 30 zile. Se cunosc și situații în care collagenul se degradează și se reînnoiește mult mai repede; spre exemplu, în involuția uterului după naștere și în vindecarea rănilor. Indiferent de ritmul de reînnoire, în procesele fiziologice normale există un echilibru foarte bine păstrat între biosinteza collagenului și degradarea lui. Această degradare se numește colagenoliză și are loc sub acțiunea unor enzime hidrolitice numite colagenaze. Colagenazele sînt secretate de către celulele țesutului conjunctiv sub formă inactivă, de procolagenaze. În mediul extracelular ele sînt activate și își exercită acțiunea hidrolitică.

În urma intervenției colagenazelor, din collagen rezultă peptide cuprinzînd hidroxiprolina sau chiar hidroxiprolina liberă. Hidroxiprolina nu poate fi reutilizată pentru biosinteza de collagen. De aceea, este luată de sînge (devenind un component al plasmăi) și dusă la ficat unde este degradată. O parte din hidroxiprolina plasmatică se elimină prin urină.

Pentru motivul că toate procesele degradative ale collagenului au loc cu intervenția colagenazelor iar în urma acțiunii lor se eliberează hidroxiprolină, dozarea acestui aminoacid în plasmă și în urină are rol de diagnostic. Într-adevăr, nivelul crescut al hidroxiprolinei libere plasmactice sau a celei urinare este adesea un indicator prețios pentru aprecierea diverselor stări patologice însoțite de colagenolize (hiperparatiroidism primar, unele boli osoase).

### Elastina

Elastina este cea mai importantă proteină din fibrele elastice. Ea se află în țesutul conjunctiv al aortei, de unde se și izolează ușor. De fapt, aorta conține elastină în proporții cuprinse între 30 și 57% din greutatea uscată. Fiind insolubilă elastina rămîne după îndepărtarea din țesutul conjunctiv a tuturor celorlalte componente (solubile).



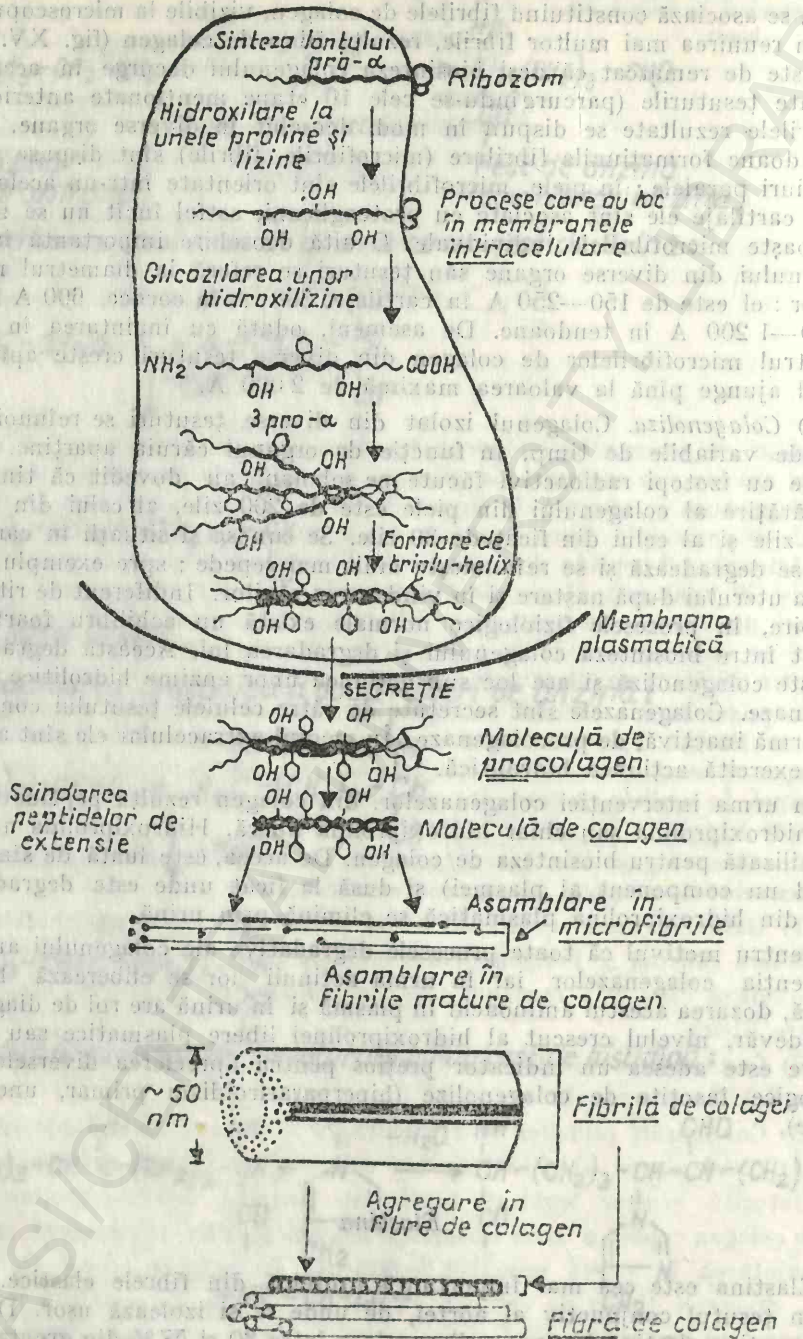


Fig. XV.7 — Schema principalelor procese inter- și extracelulare implicate în formarea fibrelor de colagen:

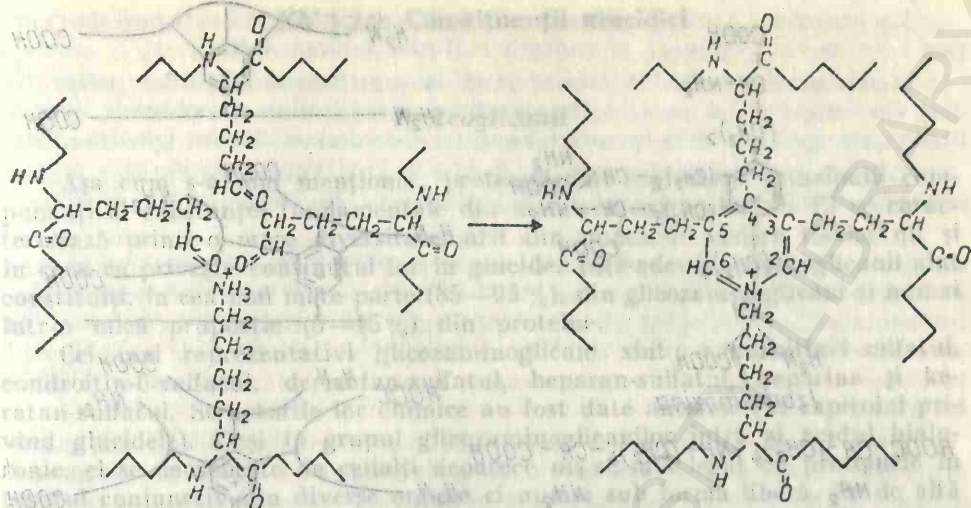


Fig. XV.8 — Formarea desmozinei.

Elastina se diferențiază puțin de collagen prin compoziția sa în aminoacizi; nu conține hidroxilizină și cuprinde o proporție foarte mică de hidroxiprolină. În schimb, conține mai multă prolină (aproximativ 10% din totalul aminoacizilor) și mult glicocol (aproximativ 30%). De asemeni, elastina are în constituția sa foarte mulți aminoacizi nepolari.

Ca și collagenul, elastina este sintetizată în fibroblaști iar rezultatul biosintezei este, inițial, proelastina. Aceasta cuprinde majoritatea aminoacizilor caracteristici (menționați anterior) și devine elastina propriu-zisă numai după „secreția” în mediul extracelular. În acest mediu ea se unește cu collagenul și alți constituenți ai țesutului conjunctiv.

Trebuie subliniat faptul că elastina formează agregate de câte două molecule care se unesc covalent datorită resturilor de lizină constitutive. La aceste legături covalente participă o moleculă de lizină, ca atare, ce se condensează la gruparea  $\text{—NH}_2$  liberă cu gruparea carbonil dintr-un rest de lizină deaminată oxidativ la stadiul de lizil-aldehidă. Procesul descris aici este cu totul asemănător celui care are loc când se stabilesc legăturile intra- și intercatenare din microfibrilele de collagen. Însă, de cele mai multe ori, în elastină se stabilesc legături covalente prin participarea la condensări a trei radicali de lizil-aldehidă (aparținând, fiecare, câte unui lanț polipeptidic) și un radical lizil — ca atare — dintr-un al patrulea lanț polipeptidic. Compusul rezultat din această condensare se numește desmozina (fig. XV.8).

Un izomer al desmozinei este izodesmozina care cuprinde ligandul din poziția 4 (a desmozinei) în poziția 2 (fig. XV.9). Datorită structurii acestor doi compuși izomeri se stabilesc veritabile „punți de legătură” între catenele polipeptidice ale elastinei, asigurându-se — totodată — și posibilitatea de alungire sau scurtare în direcții diferite (elasticitatea).



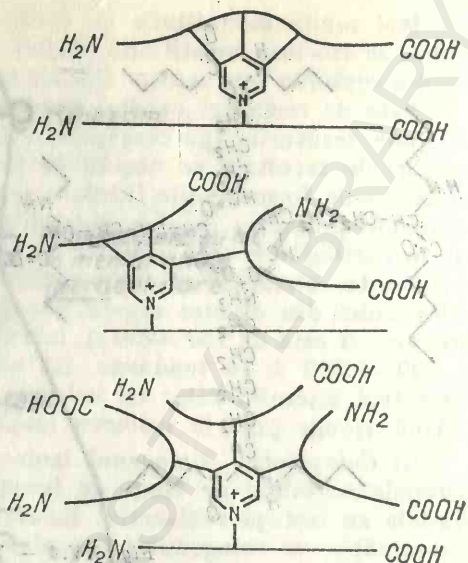
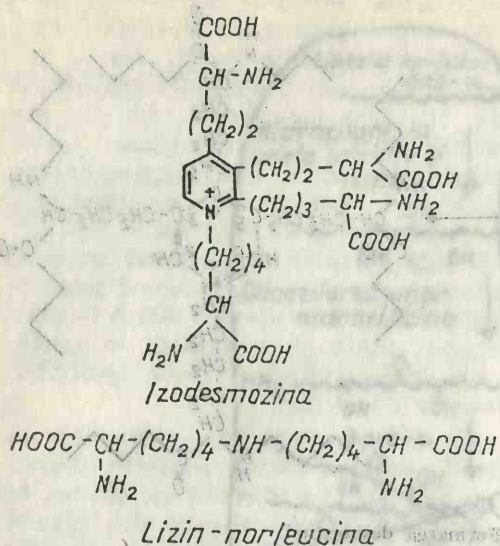


Fig. XV.9 — Isodesmosina și lizin-norleucina.

Fig. XV.10 — Conexiuni între lanțurile polipeptidice ale elastinei.

În hidrolizatele de elastină s-a identificat și lizin-norleucina (fig. XV.9) care poate crea legături încrucișate numai între două catene polipeptidice.

Schematic, legăturile încrucișate din elastină se pot reprezenta ca în fig. XV.10 iar elastina în formă contractată și întinsă, ca în fig. XV.11.

Este de remarcat că în țesuturi elastina se asociază cu glucide și lipide. Această acumulare de lipide în țesutul elastic al arterelor coronare și aortă constituie unul din factorii patogenici ai aterosclerozei.

Ca și collagenul, elastina este degradată prin hidroliză enzimatică. Hidrolaza corespunzătoare se numește elastază.

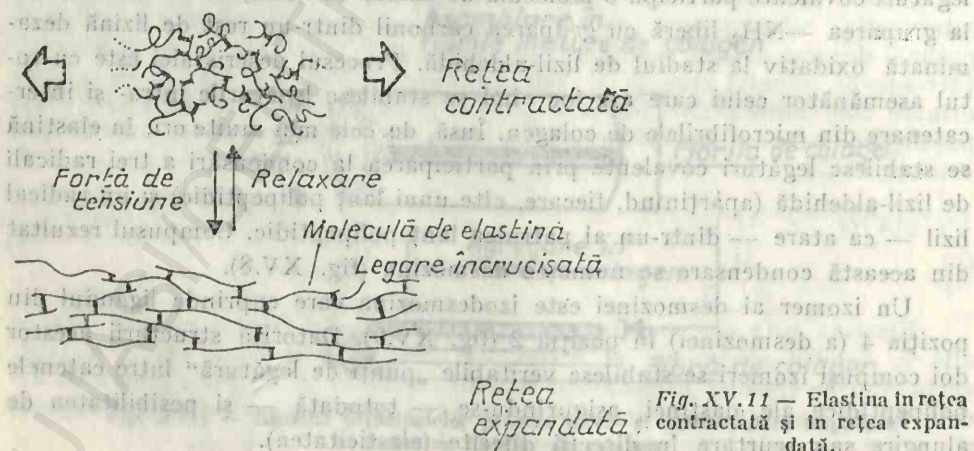


Fig. XV.11 — Elastina în rețea contractată și în rețea expandată.

XV.1.2.2; **Constituenții glucidici** — hialurina și glicidurile moi ale celulei. Hialurina este un polimer de gliciduri moi, care este un component important al matricei extracelulare. **Proteoglicanii**

Așa cum s-a mai menționat, proteoglicanii reprezintă principalii componenți ai substanței fundamentale din matricea extracelulară. Ei se caracterizează printr-o mare diversitate, atât din punct de vedere tisular cât și în ceea ce privește conținutul lor în glucide. Într-adevăr, proteoglicanii sînt constituiți, în cea mai mare parte (85—95%), din glicozaminoglicani și numai într-o mică proporție (5—15%) din proteine.

Cei mai reprezentativi glicozaminoglicani sînt: condroitin-4-sulfatul, condroitin-6-sulfatul, dermatan-sulfatul, heparan-sulfatul, heparina și keratan-sulfatul. Structurile lor chimice au fost date anterior (în capitolul privind glucidele). Deși în grupul glicozaminoglicanilor intră și acidul hialuronic, el se deosebește de ceilalți deoarece nu se află legat cu proteinele în țesutul conjunctiv din diverse organe ci numai sub formă liberă. Pe de altă parte, din punct de vedere constituțional, acidul hialuronic nu conține anioni sulfurici atașați la resturile monozaharidice respective (acid glucuronic și N-acetil-glucozamină).

Glicozaminoglicanii pot fi și „amestecați” într-o moleculă de proteoglican, în sensul că alături de aminozaharuri și acizi uronici cuprind și resturi de monozaharide diverse sau numai resturi de diferite monozaharide. Astfel, un trizaharid format din două molecule de galactoză și o moleculă de xiloză poate constitui un lanț mic ce se leagă glicozidic la grupările OH dintr-un rest de serină sau de treonină aparținînd lanțurilor polipeptidice ale componentei proteice. Acest trizaharid face — de fapt — legătura între glicozaminoglican și proteină (fig. XV.12 și 13). Numărul lanțurilor de natură glicanică fixate pe componenta proteică variază între 2 și 60, în funcție de numărul resturilor de hidrox-aminoacizi din lanțurile polipeptidice. În fig. XV.12 este reprezentată schema unui proteoglicozaminoglican polianionic (condroitinsulfat).

a) **Biosinteza proteoglicanilor.** Ca și biosinteza proteinelor țesutului conjunctiv, biosinteza proteoglicanilor din acest țesut are loc tot în fibroblaști.

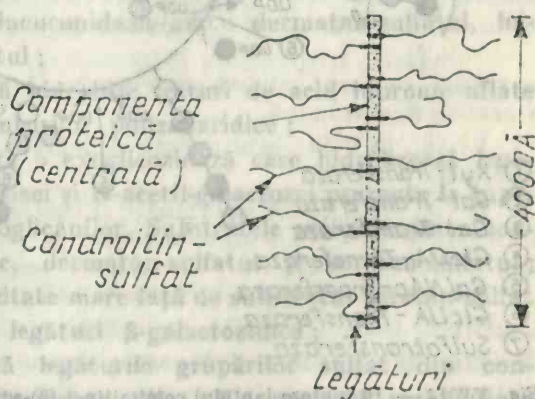


Fig. XV.12 — Schema dispunerii lanțurilor glicanice pe componenta proteică într-un condroitinsulfat.



La biosinteza proteoglicozaminoglicanilor participă trei categorii de compuși: aminoacizi, glucoză și radicali sulfurici (anioni sulfat).

Aminoacizii servesc, în primul rând, la constituirea lanțurilor polipeptidice din componenta proteică. Pe de altă parte, în urma dezaminării, ei sînt donatori de grupe —  $\text{NH}_2$  necesare biosintezei de aminosaharuri (glicozamine).

Glucoza reprezintă zaharul de plecare pentru biosinteza tuturor monozaharidelor sau a derivaților de monozaharide din componenta glucidică.

Radicalii sulfurici participă la constituirea grupărilor anionice sulfat din glicozaminoglicani, sub formă de sulfat activat. De fapt, activarea se face pe seama ATP-ului sub acțiunea ATP-sulfurilazei și APS (adenozinmonofosfosulfat)-kinazei. Faptul că ATP-sulfurilaza își intensifică activitatea în prezența retinolului explică rolul favorizant al vitaminei A în anabolismul țesutului conjunctiv (prin promovarea biosintezei proteoglicanilor constitutivi).

După încheierea biosintezei componentei proteice sau, de cele mai multe ori, chiar în cursul formării catenelor polipeptidice pe ribozomi, la nivelul grupărilor OH din treonină sau serină se fixează O-glicozidic unitatea trizaharidică de legătură (Xil-Gal-Gal). Ulterior, se leagă treptat resturile glucidice (acidul uronic și aminosaharul) din unitatea repetitivă specifică. În cele din urmă, se fixează anionii sulfat în pozițiile caracteristice. Donorii resturilor glucidice sînt nucleotidil-zaharurile respective (UDP-glucid). Enzimele participante sînt glicoziltransferaze specifice fiecărui rest de glucid și o sulfat-transferază. În fig. XV.13 este schematizată biosinteza unui proteoglicozaminoglican în care componenta glucidică este condroitin-4-sulfat.

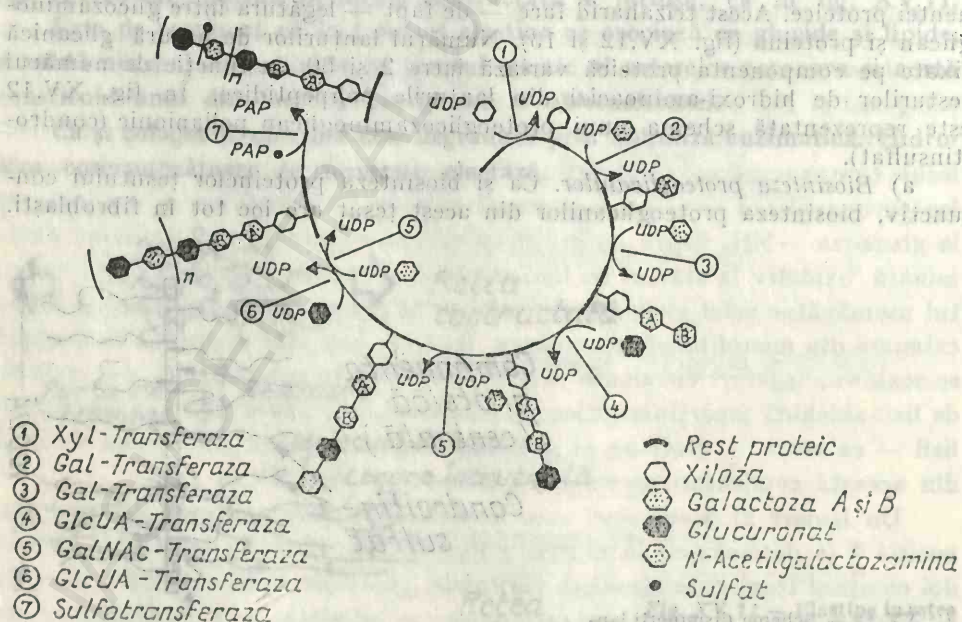


Fig. XV.13 — Biosinteza lanțului condroitin-4-(6)-sulfatului din proteoglicanul corespunzător.

Biosinteza proteoglicanilor se află sub direct reglaj hormonal. În special, insulina și glucocorticoizii intervin în biosinteza componentelor glucidice ale diversilor proteoglicani. Astfel, insulina favorizează biosinteza acidului hialuronic și a condroitin-sulfatilor. Acest fapt explică de ce la diabetici este mai mare pericolul infectării cu bacterii a țesutului conjunctiv din tegumente sau diverse alte organe. Cortizonul inhibă biosinteza glicozaminoglicanilor, ceea ce explică acțiunea defavorizantă a acestor hormoni în procesul de vindecare a rănilor.

Macromoleculele proteoglicanilor se asociază cu fibrele de collagen. Formațiunile astfel create în țesutul conjunctiv constituie o barieră pentru trecerea substanțelor cu molecule mai mari și reglează transportul substanțelor cu molecule mai mici, îndeplinind astfel rolul unor adevărate site moleculare.

b) *Degradarea proteoglicanilor.* Spre deosebire de collagen care, în mod normal, se degradează foarte încet, proteoglicanii se degradează mult mai repede în majoritatea țesuturilor. Spre exemplu, în rinichi timpul de înjumătățire a glicozaminoglicanilor este de 3—8 zile. Degradarea proteoglicanilor începe sub acțiunea proteoglicanazei. Aceasta este o metaloenzimă cu greutate moleculară 24 500 și cu pH optim de activitate cuprins într-un domeniu larg (pH: 5—9). De asemeni, proteoglicanaza are și o specificitate largă deoarece catalizează hidroliza legăturilor condroitin-sulfatului cu proteina centrală în multe regiuni și în numeroși proteoglicani. Proteoglicanaza are și capacitatea de a îndepărta peptidele de extensie din procollagen precum și de a degrada fibronectina (glicoproteină matriceală).

După intervenția proteoglicanazei, degradarea proteoglicanilor este continuată prin intermediul unor hidrolaze de origine lizosomală (exo- și endoglicozidaze) iar legăturile ester-sulfurice sînt hidrolizate de sulfataze. Dintre glicozidaze, mai bine cunoscute — prin acțiunea și specificitatea lor — sînt următoarele :

(1)  *$\beta$ -glucuronidaza* care este o exoglicozidază ce hidrolizează legătura  $\beta$ -glicozidică a acidului glucuronic (sau iduronic) aflat la capetele nereducătoare ale lanțurilor polizaharidice. Substratele care cuprind acești acizi uronici și asupra cărora acționează  $\beta$ -glucuronidaza sînt: dermatan-sulfatul, heparan-sulfatul și condroitin-sulfatul;

(2)  *$\alpha$ -iduronidaza* îndepărtează hidrolitic resturi de acid iduronic aflate la capetele nereducătoare ale lanțurilor polizaharidice;

(3)  *$\beta$ -acetil-hexozaminidaza* este o exoglicozidază care hidrolizează legăturile  $\beta$ -glicozidice ale N-acetilglucozei și N-acetil-galactozei prezente la capetele nereducătoare ale glicozaminoglicanilor. Substratele utilizate sînt: condroitin-sulfatul, acidul hialuronic, dermatan-sulfatul și keratan-sulfatul;

(4)  *$\beta$ -galactozidaza* are specificitate mare față de substratul keratan-sulfat deoarece acesta cuprinde multe legături  $\beta$ -galactozidice;

(5) *amil-sulfatazele* hidrolizează legăturile grupărilor sulfat din condroitin-sulfati, keratan-sulfat și dermatan-sulfat. Ele prezintă specificitate





Glicoproteinele sînt constituite și ele dintr-o componentă proteică și una glucidică dar predomină cantitativ cea de natură proteică (pînă la 60—80% din masa moleculei). Componenta glucidică este constituită, la rîndul ei, din numeroase și variate zaharuri : hexoze (unite adesea cite 7 într-un același lanț), ozamine (N-acetil-glucozamină și N-acetil-galactozamină), pentoze (xiloză, arabinoză) și metilpentoză (L-fucoză). Lanțurile constituite din monozaharide neutre cuprind : manoză, galactoză, fucoză, xiloză, arabinoză și glucoză. De asemeni, în constituția glicoproteinelor intră și acid sialic. Natura fragmentelor oligozaharidice precum și a legăturilor care se stabilesc între componentele glucidice și cele proteice au fost amplu prezentate în capitolul privind glucidele.

Este de remarcat faptul că spre deosebire de glicoproteinele funcționale solubile (enzime, mucine, hormoni, glicoproteine serice) cele din țesutul conjunctiv sînt glicoproteine structurale. Se consideră că acestea din urmă ar participa la procesul calcifierii (vezi mai departe, țesutul osos) și ca factori reglatori în însăși morfogeneza țesutului din care fac parte.

O glicoproteină importantă din matricea extracelulară este fibronectina. Ea stimulează adeziunea celulelor. Molecula acestei glicoproteine se caracterizează prin domenii specifice de legare la diverși constituenți matriceali. Astfel, prin unele regiuni se atașează la collagen iar prin altele la proteoglicanii de tip heparansulfat și condroitin-sulfat. Cînd se atașează de fibrele de collagen, asamblate în prealabil, fibronectina modifică cinetica formării de fibrile în matricea pericelulară. Din punct de vedere constituțional, fibronectina este formată din două subunități (fiecare cu masa de 220 000 daltoni) și conține glucide în proporție de 5% din greutatea sa.

Ținînd seama de toți constituenții principali ai țesutului conjunctiv descriși aici, de proprietățile și structurile lor, precum și de modalitățile în care se pot asocia unii cu alții, se înțelege că — împreună — ei contribuie la formarea unui complex care răspunde tuturor funcțiilor împlinite de acest țesut. Unitatea funcțională complexă a țesutului conjunctiv este prezentată în schema din fig. XV.15.

Din fig. XV.15 rezultă că modificarea oricărui proces biochimic ilustrat în schemă poate avea drept consecințe modificarea constituenților și funcționarea anormală a întregului complex, atrăgînd instalarea unor boli ale țesutului conjunctiv. Acestea sînt menționate în subcapitolul următor.

### XV.1.2.3. Modificările constituenților țesutului conjunctiv

Constituenții țesutului conjunctiv pot suferi două genuri de modificări : fiziologice și patologice. Modificările fiziologice sînt asociate, în special, cu înaintarea în vîrstă ; cele patologice se datoresc, adesea, funcționării anormale a unor enzime care participă la anabolismul sau catabolismul constituenților



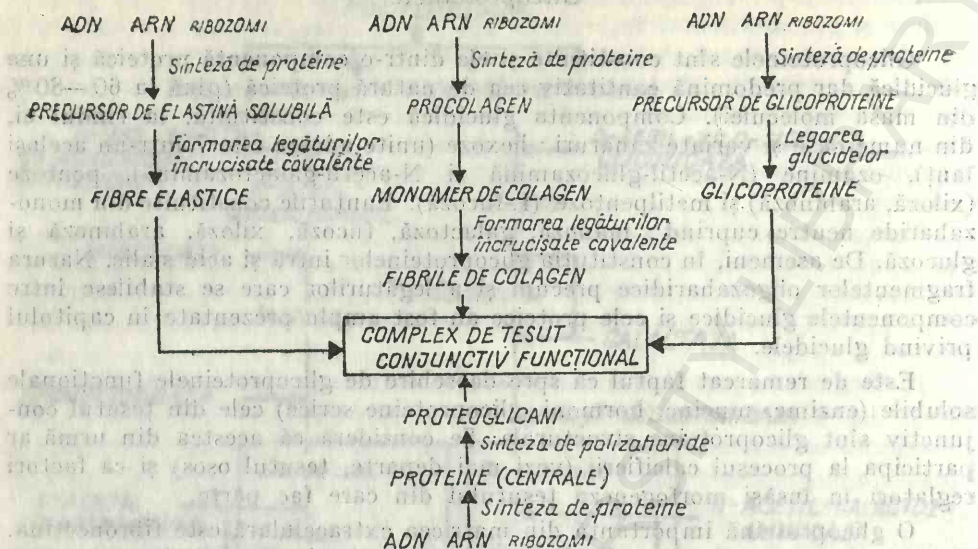


Fig. XV.15 — Contribuția diverselor macromolecule constitutive la formarea complexului funcțional din țesutul conjunctiv. (Pentru fiecare gen de moleculă este prezentată și schema parțială a biosintezei respective).

țesutului conjunctiv. Uneori sint implicați însă și factori genetici în determinarea bolilor acestui țesut.

În cele ce urmează se menționează câteva modificări cantitative și calitative ale unora din constituenții țesutului conjunctiv.

### Modificări în funcție de vîrstă

Odată cu înaintarea în vîrstă au loc modificări importante din punct de vedere cantitativ la nivelul țesutului conjunctiv. Într-adevăr, concentrația collagenului crește cu vîrsta (în special, la nivelul pielii, aortei, diverselor cartilaje), în timp ce scad concentrațiile mucopolizaharidelor și a apei. Acest ultim fapt are ca rezultat schimbarea proprietăților fizice ale macromoleculelor din țesutul conjunctiv, inclusiv ale collagenului care manifestă tendința de a cristaliza în interiorul fibrelor. În ceea ce privește scăderea concentrației mucopolizaharidelor, este de remarcă că ea se face preferențial pentru anumiți glicozaminoglicani și în anumite organe. Spre exemplu, în cartilaje scade, mai cu seamă, concentrația condroitin-6-sulfatului, se reduce în mai mică măsură concentrația condroitin-4-sulfatului iar concentrația keratan-sulfatului rămîne neschimbată sau chiar crește. Deoarece lanțurile polizaharidice de condroitin-sulfat și keratan-sulfat sînt atașate la aceeași catenă polipeptidică centrală, se consideră că odată cu înaintarea în vîrstă au loc modificări ale biosintezei proteoglicanilor numai în unele regiuni dintr-un același complex funcțional. Aceste modificări parțiale au consecințe importante pentru gradul de hidratare al cartilajului precum și pentru posibilitatea eventualei sale calcifieri (a se vedea, mai departe, la țesutul osos).

Colagenozele sînt boli ale țesutului conjunctiv în care au loc modificări calitative și cantitative ale colagenului. În categoria acestor boli se încadrează artrita reumatismală, osteoartrita, lupusul eritematos precum și unele boli ereditare.

În cele ce urmează se specifică defectele metabolice dovedite în unele din aceste colagenoze.

În *artrita reumatismală* s-a constatat o activitate anormal de mare a enzimelor proteolitice lizozomale. Datorită acestui fapt, proteinele (în special, colagenul) țesutului conjunctiv sînt degradate hidrolitic. Ca urmare, se reduce foarte mult numărul fibrelor de colagen din țesutul respectiv și în locul lor apar infiltrate inflamatorii. Trebuie remarcat însă că în artrita reumatismală sînt parțial degradate și macromoleculele de acid hialuronic din lichidul sinovial.

În *colagenozele ereditare* sînt implicate defecte enzimatice care conduc la fragilitatea și hiperextensibilitatea unui număr mare de țesuturi. Printre aceste defecte enzimatice mai frecvente sînt deficiențele de : lizin-hidroxilază, procologen-N-peptidază și procologen-C-peptidază. Asemenea deficiențe enzimatice, dimpreună cu tulburări ale metabolismului cuprului, se întîlnesc în *sindromul Ehlers-Danlos* și în *sindromul Menkes*. În principiu, lipsa oricărei enzime necesare sintezei de procologen și modificărilor care au loc după eliberarea lui din celulă reprezintă cauze potențiale pentru declanșarea unei boli ereditare.

Colagenozele determinate genetic nu se datoresc totdeauna numai lipsei de enzime implicate în metabolismul colagenului. Astfel, în *sindromul Marfan* lanțurile  $\alpha_2$  sînt mai lungi și nefuncționale, ceea ce atrage stabilirea unor legături încrucișate anormale. Pe de altă parte, *maladia numită osteogenesă imperfectă* care se caracterizează prin dezorganizarea totală a țesutului conjunctiv din tendoane, ligamente, aparat digestiv, sistem osos (schelet), scleră — are drept cauză biosintetizarea de către fibroblaști a unui colagen fetal (cuprînzînd trei lanțuri polipeptidice identice de tip  $\alpha_1$ ) în locul colagenului normal (constituit dintr-un lanț de tip  $\alpha_2$  și două de tip  $\alpha_1$ ). Această singură diferență structurală are multiple repercusiuni defavorabile manifestate la nivelul organelor menționate : scleră este albastră, auzul este scăzut, oasele se deformează și se fracturează ușor, etc.

### Modificări calitative dobîndite

În *scorbul* are loc o marcată deficiență de prolil hidroxilază datorită lipsei de vitamină C care activează enzima. În consecință, nu se mai fac hidroxilările prolinei și lizinei din constituția colagenului și astfel întreaga structură a acestuia este alterată.

În *diabet* se remarcă o îngroșare a țesutului conjunctiv din pereții vaselor sangvine ale retinei. Aceste modificări pot conduce la scăderea vederii și chiar la orbire.

Unele tulburări renale pot fi atribuite îngroșării țesutului conjunctiv de la nivelul glomerulului.



Mucopolizaharidoze (MPS)	Sindromul	Defectul enzimatic	MPS-predominant în urină
MPS I	Hurler	$\alpha$ -4-iduronidaza	dermatan-sulfat heparan-sulfat
MPS II	Hunter	Iduronat sulfataza	idem
MPS III A	Sanfilippo A	Heparan-sulfat N-sulfataza	heparan-sulfat ( $\pm$ )
MPS III B	Sanfilippo B	N-acetilglucozaminidaza	heparan-sulfat
MPS III C	Sanfilippo C	acetil-transferaza	heparan-sulfat
MPS IV	Morquio	N-acetilgalactozamin-6-sulfataza	keratan-sulfat
MPS V	Morteaux-Lamy	N-acetil-glucozamin-4-sulfatază (arilsulfataza B)	dermatan-sulfat

### Modificări implicate în formarea cicatricelor

Repararea țesuturilor după răni (sau inflamații) este întovărășită adesea de proliferarea fibroblastică și cicatrizare. De fapt, formarea cicatricei presupune constituirea unor mănunchiuri (pachete) de fibrile de collagen. Trebuie remarcat însă că în cazul organelor parenchimale (exemplu ficatul) cicatrizările repetate și înlocuirea țesutului normal cu collagen (ca în ciroză) pot conduce la deficiențe în funcționarea organelor respective.

### Mucopolizaharidozele

Mucopolizaharidozele sînt o categorie de boli genetice care se caracterizează prin depozitarea în țesuturi și excreție urinară excesivă de glicozaminoglicani (mucopolizaharide, în denumirea mai veche). Aceste maladii se datoresc incapacității organismelor respective de a sintetiza unele enzime lizomale implicate în degradarea glicozaminoglicanilor din constituția țesutului conjunctiv. Ca urmare, proteoglicanii corespunzători se acumulează, în cantități anormale, la nivelul diverselor țesuturi. Acest fapt antrenează multiple și variate modificări. Într-adevăr, în mucopolizaharidozele cunoscute au loc frecvente schimbări în structura scheletului, dezvoltarea organelor este întîrziată, acuitatea auditivă se diminuează sau chiar se pierde, se instalează o evidentă întîrziere mintală, se produc tulburări cardio-pulmonare de diverse genuri și intensități, se declanșează splenomegalie, etc.

Mucopolizaharidozele sînt suficient de frecvente. Ele au fost studiate de mulți cercetători și sînt cunoscute azi sub numele de sindroame ale acestora. În tabelul XV.3 sînt menționate unele tipuri deosebite de mucopolizahari-

Manifestări clinice					
Modificări scheletice	Întârziere mentală	Cardiopulmonar	Hepatospleno megalie	Opacitate corneice	Pierdere auz
marcate	severă după primul an	slăbirea ventilației	marcată	progresivă	prezentă
moderate până la marcate	severă dar gradată	hipertens. pulmon.	marcată	rară	prezentă
slabe	severă	nedescrise	moderată	absentă	prezentă
marcate	absentă	îngustarea aortei	ușoară	prezentă (întârziată)	prezentă (nu severă)
marcate	absentă	murmur cardiac	moderată	prezentă	variabilă

doze, indicindu-se pentru fiecare în parte mucopolizaharidele eliminate predominant prin urină precum și manifestările clinice caracteristice.

În genere, pentru diagnosticarea mucopolizaharidozelor se cercetează activitățile enzimatică în culturi de fibroblaști. Este însă de remarcă că se poate stabili defectul enzimatic specific și prin determinarea activității unor enzime în lichidul amniotic. Asemenea determinări prenatale sînt foarte importante pentru diagnosticarea mucopolizaharidozelor cu evoluție letală.

## XV.2. ȚESUTUL OSOS

Țesutul osos este o specie particulară de țesut conjunctiv cu constituție complexă din punct de vedere chimic și cu proprietăți fizice caracteristice. În afară de o fracțiune celulară, în țesutul osos se disting trei faze structurale : matricea organică, faza minerală și apa. Aceasta din urmă intră în proporția cea mai mică : 2—10% din greutatea osului (matur). Faza minerală este predominantă — aproximativ 70% — iar matricea organică reprezintă 20%. Datorită unei asemenea constituții, țesutul osos se caracterizează prin două însușiri fizice fundamentale : (a) rezistență mecanică mare și (b) elasticitate apreciabilă. Deși rezistența mecanică a țesutului conjunctiv este conferită, în special, de faza minerală iar elasticitatea de constituții organici, între cele două feluri de componenți există o strînsă interdependență. Într-adevăr,



combinarea și conlucrarea matricei organice cu constituenții minerali asigură în permanență nu numai proprietățile mecanice particulare ale țesutului osos dar și întreaga lui „vitalitate“ (vezi mai departe, procesele de formare și dislocare a osului).

## XV.2.1. COMPOZIȚIA ȚESUTULUI OSOS

Din punct de vedere structural, oasele sînt formate din fibre de collagen dispersate într-o matrice și din săruri minerale cristalizate. În țesutul rezultat din asocierea acestor componente structurale se creează și lacune în care sînt plasate celulele osoase : osteoblastele, osteocitele și osteoclastele.

### XV.2.1.1. Constituenții minerali

Acești constituenți minerali reprezintă așa-numitele „săruri ale osului“. Compoziția lor este prezentată în tabelul XV.4.

Tabel XV.4

Compoziția chimică a substanțelor minerale intrînd în constituția osului

Constituentul	% din greutatea osului degresat și uscat
Cenușe	70,20
Azot (N)	4,43
Anioni	
Fosforici (exprimați prin P)	12,60
Carbonici (exprimați prin CO <sub>2</sub> )	3,90
Citrat	1,20
Lactat	0,12
Cationi	
Sodiu (Na <sup>+</sup> )	3,43
Calciu (Ca <sup>2+</sup> )	27,50
Magneziu (Mg <sup>2+</sup> )	0,43
Raport Ca/P	2,18
Raport P/N	3,67

Ținînd seama de constituenții care figurează în tabelul XV.4, este de remarcat că mai mult de 95% din substanțele minerale sînt reprezentate de calciu, fosfați și carbonați. Combinațiile rezultate în cea mai mare măsură sînt : fosfatul tricalcic (după cum rezultă din raportul Ca/P, apropiat de 1,94) și carbonatul de calciu. Cu ajutorul spectrelor de difracție a razelor X s-a constatat că aceste două combinații sînt asociate în apatite microcristaline, complexe, cu formula :



în care X reprezintă diverși anioni (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HO<sup>-</sup>, F<sup>-</sup>). Cînd X este HO<sup>-</sup> combinația se numește hidroxiapatită.

Hidroxiapatita are formula :  $[\text{Ca}(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)_3]^{2+} 2 \text{OH}^-$  sau, scrisă restrins :  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ .

Rețelele cristaline ale acestor combinații complexe au puncte de nesaturare în care adesea sînt fixați prin chimosorbție și alți ioni (Na, Pb, Ra, U, Sr). Pe lângă principalul constituent mineral menționat, osul mai cuprinde : carbonat de calciu, fosfați de magneziu și săruri organice insolubile de calciu ; în special, lactat și citrat de calciu.

Substanța minerală a osului se modifică în tot cursul vieții. De fapt, așa cum au dovedit studiile efectuate cu ajutorul calciului radioactiv ( $^{45}\text{Ca}$ ), oasele scheletului — considerate în aparență inerte — se află într-o permanentă stare dinamică. Într-adevăr, în fiecare moment, osul se dislocă și se constituie. Bilanțul calciului din organism, definit ca fiind diferența dintre aportul elementului și excreția sa, corespunde, în realitate, diferenței dintre procesul de formare și cel de dislocare a osului. Acest bilanț este pozitiv în tot timpul dezvoltării individului, cînd are loc continua osificare a cartilajelor ; este numai ușor pozitiv după încetarea creșterii și devine negativ în perioada de îmbătrînire.

Refnoirea constituenților minerali din oasele adultului a fost pusă în evidență și cu ajutorul izotopului radioactiv al fosforului  $^{32}\text{P}$ . S-a constatat astfel că dacă un animal adult ingerează fosfați marcați cu acest izotop oasele animalului fixează, în decurs de o săptămînă, cca 30% din  $^{32}\text{P}$ . Apoi, încetul cu încetul, fosforul radioactiv își scade concentrația din oase prin schimb cu izotopul natural al fosforului,  $^{31}\text{P}$ .

#### XV.2.1.2. Constituenții organici

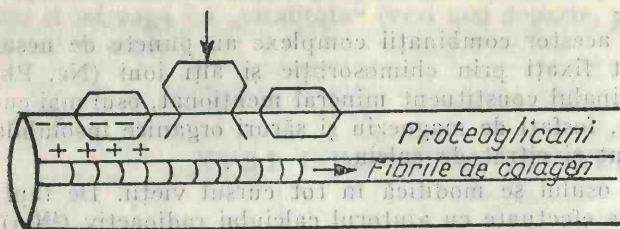
Substanțele organice din constituția osului, în proporție de 20%, alcătuiesc matricea lui — numită și *osteoid*. 95% din matricea osului este reprezentată de collagen. Acesta se află, ca și în țesutul conjunctiv, sub formă de fibre rezultate din agregarea fibrilelor, cu structură periodică.

În osteoid s-au identificat cca 18 proteine. Dintre acestea, 7 proteine se găsesc în circulația sangvină, așa cum și unele proteine plasmatice se află în matricea osoasă. În afară de collagen, printre celelalte proteine ale matricei se mai remarcă osteocalcina, bogată în acid carboxiglutamic, și proteina osoasă morfogenetică. Aceasta din urmă este abundentă în matrice și are capacitatea de a induce diferențierea, în cartilaj și os, a celulelor țesutului conjunctiv perivascular din măduva osoasă.

O proporție redusă (cca 4%) din matricea organică a osului este constituită din proteoglicani care cuprind, în genere, aceași glicozaminoglicani întîlniți și prezentați la țesutul conjunctiv. În osteoid se mai găsesc : glicogen, glucoză și fosfolipide.

Este de remarcă faptul că în țesutul osos proteoglicanii din matrice înconjoară fibrele de collagen stabilind legături ionice cu acesta iar pe edificiul astfel format sînt ancorate cristalele constituite din substanța minerală (fig. XV.16).





Constituenții organici ai osului se află și ei într-o continuă reînnoire; însă aceasta decurge mult mai încet pentru colagen. Indiferent de ritmul rapid sau lent al reînnoirii, ea este asigurată permanent în os prin furnizarea de energie în urma degradării glucozei provenită, la rândul ei, din glicogen. La nivelul osului, glucoza este degradată pe calea glicolitică (pînă la acid piruvic) urmată de ciclul acizilor tricarboxilici.

#### XV.2.2. CELULELE OSOASE

Osul cuprinde două tipuri principale de celule funcționale: (1) osteoblastele, care predomină în zonele de creștere și (2) osteoclastele, care predomină în regiunile de resorbție. De mai mult timp, precursorii osteoclastelor sînt considerate celulele care aparțin grupurilor monocite-macrofage deoarece ele produc substanțe stimulative pentru activitatea osteoclastică. Pe de altă parte, cercetări recente (1985) au dovedit că macrofagele din măduva osoasă și peritoneu secretă o substanță stimuloare atît pentru sinteza ADN-ului cît și pentru creșterea osteoblastelor (precum și a condrocitelor). Această substanță stimuloare, considerată la început unică, este reprezentată de doi factori de creștere: o proteină cu greutate moleculară mare (43 000 daltoni) și o peptidă cu greutate moleculară mică (10 000 daltoni). Se înțelege, în aceste condiții, că macrofagele acționează asupra ambelor procese de remanierare osoasă: resorbția și formarea.

În osteoblaste se sintetizează atît proteoglicanii matricei osoase cît și procologenul solubil. De asemeni, osteoblastele mai cuprind: glicogen; enzimele de degradare ale lui, fosfataza alcalină și acid ribonucleic participant la sinteza proteică.

Osteoclastele conțin și ele enzime; în special, pe cele cu activitate proteolitică intensă.

Din enumerarea constituenților și funcțiilor (opuse) celor două tipuri de celule osoase, osteoblaste și osteoclaste, rezultă că osul se află într-o permanentă distrugere și refacere; deci într-o reînnoire continuă. Reînnoirea osului

are loc în centre discrete la nivelul scheletului și se desfășoară potrivit unei anumite secvențe de evenimente :

În urma *semnalului de activare* (de origine și natură incomplet elucidate) într-un anumit loc din os apar osteoclastele, celule gigante și multinucleate. Acțiunea acestui stimul de activare durează câteva ore.

Osteoclastele resorb substanța osoasă (matricea organică plus faza minerală) din locul respectiv, în timp de cca o lună.

După resorbție, un alt *semnal cuplat* declanșează recrutarea osteoblastelor (celule mononucleate cuboide sau cilindrice cu aparat Golgi dezvoltat) în lacunele osoase lăsate de osteoclaste.

Osteoblastele generează noua matrice organică, osteoidul. O parte din osteoclaste ajung, la un moment dat, înconjurate de matricea nou-formată și se modifică trecând în osteocite (celule osoase), în înțelesul strict al cuvântului).

Matricea nou-formată se mineralizează treptat (în timp de cca 3 luni).

Este de remarcat că reînnoirea osoasă are, în permanență, un dublu rol : optimizarea proprietăților structurale ale osului (sau a scheletului) și menținerea homeostaziei lui.

### XV.2.3. BIOCHIMIA PROCESULUI DE FORMARE ȘI DISLOCARE A OSULUI

#### XV.2.3.1. Formarea osului

Din punct de vedere biochimic, formarea osului presupune : (1) sintetizarea și asamblarea constituentilor matricei organice și (2) mineralizarea ei. În realizarea acestor procese, rolurile hotărâtoare le împlinesc, după cum s-a mai menționat, osteoblastele. Într-adevăr, la nivelul lor se formează proteoglicanii, fibrele de collagen și se promovează mineralizarea. Acest ultim proces, cunoscut și sub numele de calcifiere, constă în formarea fosfaților de calciu cristalini și depunerea lor pe matricea organică. S-a constatat că la oasele din scheletul omului mineralizarea se face în foarte mică măsură în primele 10 zile de la depunerea matricei. În schimb, în următoarele 4 zile matricea se mineralizează repede, în proporție de 70%. Completa mineralizare, sau „maturarea osteoidului” se perfectează în cca trei luni.

La rîndul ei, mineralizarea osului presupune desfășurarea simultană a trei procese : (a) creșterea concentrației ionilor fosforici ( $\text{HPO}_4^{2-}$ ), (b) creșterea concentrației ionilor de calciu ( $\text{Ca}^{2+}$ ) și (c) creșterea pH-ului (deci realizarea unui pH bazic).

Creșterea concentrației ionilor  $\text{HPO}_4^{2-}$  se explică luîndu-se în considerare pe de o parte, sursele care furnizează radicali fosforici iar pe de altă parte,



enzimele care înlesnesc dislocarea acestor radicali din substrat. O primă sursă de ioni fosforici o reprezintă ionii  $\text{HPO}_4^{2-}$  plasmatici. O a doua sursă o formează diverșii esteri fosforici (tot din plasmă). Sub acțiunea fosfatazelor, din acești esteri se liberează radicali fosforici. Ionii fosforici din plasmă participă la dislocarea fosforolitică a glicogenului din osteoblaste conducând la formarea de glucoză-1-P. Procesul are loc sub acțiunea fosforilazelor. Ulterior, sub acțiunea fosfatazei alcaline din osteoblaste, se eliberează (prin hidroliza glucozei 1-P) anionii fosforici.

Creșterea concentrației ionilor  $\text{Ca}^{2+}$  are loc prin fixarea acestora pe condroitin-sulfatii din constituția proteoglicanilor matricei. Condroitin-sulfatii fixează ionii  $\text{Ca}^{2+}$  la nivelul resturilor —  $\text{SO}_3\text{H}$ .

Creșterea pH-ului ar putea fi atribuită influenței exercitată de hormonii steroizi. Ei inhibă glicoliza propriu-zisă, deci formarea de acid piruvic și acid lactic (care ar acidifica mediul).

Pentru mineralizarea osului ionii  $\text{HPO}_4^{2-}$  și  $\text{Ca}^{2+}$  sînt fixați imediat după mobilizarea lor, independent unii de alții, pe matricea osului. Ulterior ei se combină, formîndu-se  $\text{HCaPO}_4$ . Deoarece mediul este alcalin fosfatul monoacid de calciu trece în fosfat neutru tricalcic,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  iar acesta formează — prin înglobare de alți ioni, așa cum s-a menționat — cristalitele complexe de hidroxil apatită.

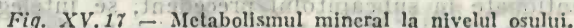
#### XV.2.3.2. Dislocarea osului

Procesul de dislocare a osului constă în parcurgerea inversă a etapelor menționate la formarea lui și este efectuat de către osteoclaste. Trebuie subliniat faptul că proprietatea resorptivă a osteoclastelor o au, în oarecare măsură, și osteocitele.

Înainte de degradarea matricei organice sub acțiunea hidrolazelor lizozomale eliberate din osteoclaste, osul este demineralizat. Această demineralizare trebuie să preceadă degradarea osteoidului deoarece substanța minerală este impermeabilă pentru macromoleculele enzimelor. Demineralizarea se realizează, relativ ușor, prin solubilizarea cristalelor osoase de hidroxilapatită (și alte apatite constitutive) în mediul acid din osteoclaste. Acidul predominant din acest mediu este acidul citric. Ulterior resorbției minerale are loc în osteoclast degradarea proteoglicanilor și a proteinelor matricei.

Spre deosebire de etapele formării osului, care sînt decalate la intervale apreciabile de timp, în osteoblast, etapele inverse (de dislocare) desfășurate în osteoclast se succed la intervale mai apropiate. Într-adevăr, s-a constatat că demineralizarea precede imediat degradarea matricei organice (în primul rînd, a componentelor ei necolagenice și apoi, a celor colagenice).

În fig. XV.17 sînt prezentate schematic participarea și eliberarea ionilor în cursul formării și dislocării osului.





*Somatotropina* sau *hormonul de creștere* favorizează osificarea, în special, la nivelul periostului, și promovează biosinteza collagenului precum și a proteoglicanilor din osteoid.

*Esterogenii* intervin favorabil în formarea oaselor lungi, în genere. S-a constatat totuși, relativ recent, că răspunsul prin creșterea oaselor la administrare de estrogeni variază, atît cu specia animală cît și cu modul de administrare al hormonului.

Din intervențiile hormonale enumerate, se desprinde faptul că hiper- sau hiposecreția oricăruia din acești hormoni poate antrena tulburarea proceselor de formare ori dislocare osoasă. Un exemplu edificator în această privință este *osteoporoza* care se manifestă odată cu îmbătrînirea. Într-adevăr, în osteoporoză este perturbată (scăzută) absorbția ionilor de calciu din tubul digestiv și ca urmare se reduce anabolismul osos. În schimb, este intensificat catabolismul osului și, în consecință, are loc o creștere marcată a calciuriei. Unele cercetări recente, efectuate în această problemă, au demonstrat că toate modificările enumerate se pot înlătura prin aport suficient de calcitonină. De fapt, carența de calcitonină este considerată ca unica responsabilă a tuturor perturbărilor din osteoporoză. Datorită ei fixarea calciului la nivelul osului scade și, tot datorită acestei carențe, nu se poate contracara dislocarea osoasă, stimulată de parathormon.

#### XV.2.3.4. Tulburări ale homeostaziei osoase

Din cele menționate în subcapitolul precedent, se înțelege că dezechilibrul activității hormonilor implicați în formarea și dislocarea osului poate tulbura ușor homeostazia osoasă. Independent de acest dezechilibru, o altă cauză majoră de alterare a homeostaziei osului poate fi socotită disfuncția celulelor osoase. În această privință, s-a constatat că ori de cîte ori activitatea de bază a celulelor osoase este modificată, au loc și tulburări ale homeostaziei minerale scheletice. Pe de altă parte, întreruperea sau suprimarea interacțiunii celulelor osoase afectează integritatea și buna funcționare a oaselor scheletice.

Trebuie remarcat însă faptul că există împrejurări fiziologice (normale și patologice) în care tulburările homeostaziei osoase sînt necesare. Astfel, în timpul creșterii scheletului are loc un dezechilibru pozitiv căci se formează mai multă masă osoasă decît se dislocă. De asemenea, în cazul vindecării fracturilor tulburarea homeostaziei osoase se manifestă prin formare prealabilă de țesut organic fibros și ulterior de calus, la locul fracturii. Deși calusul inițial care ia naștere este un os spongios, mai puțin rezistent, formarea lui restabilește homeostazia osoasă. În continuare însă, aceasta este din nou tulburată căci osul spongios se dislocă și se resoarbe. În sfîrșit, urmează o nouă tulburare a homeostaziei — caracterizată prin bilant pozitiv mineral — deoarece în locul calusului primar (spongios) se formează cel definitiv, constituit din os compact.

## Cap. XVI. BIOCHIMIA TESUTULUI HEPATIC

### GENERALITĂȚI

Ficatul este un organ cu poziție importantă și rol metabolic multiplu, atât în condiții normale cât și în situații patologice. Din acest motiv Ludwig l-a numit „laboratorul central al organismului“. În acest organ se desfășoară

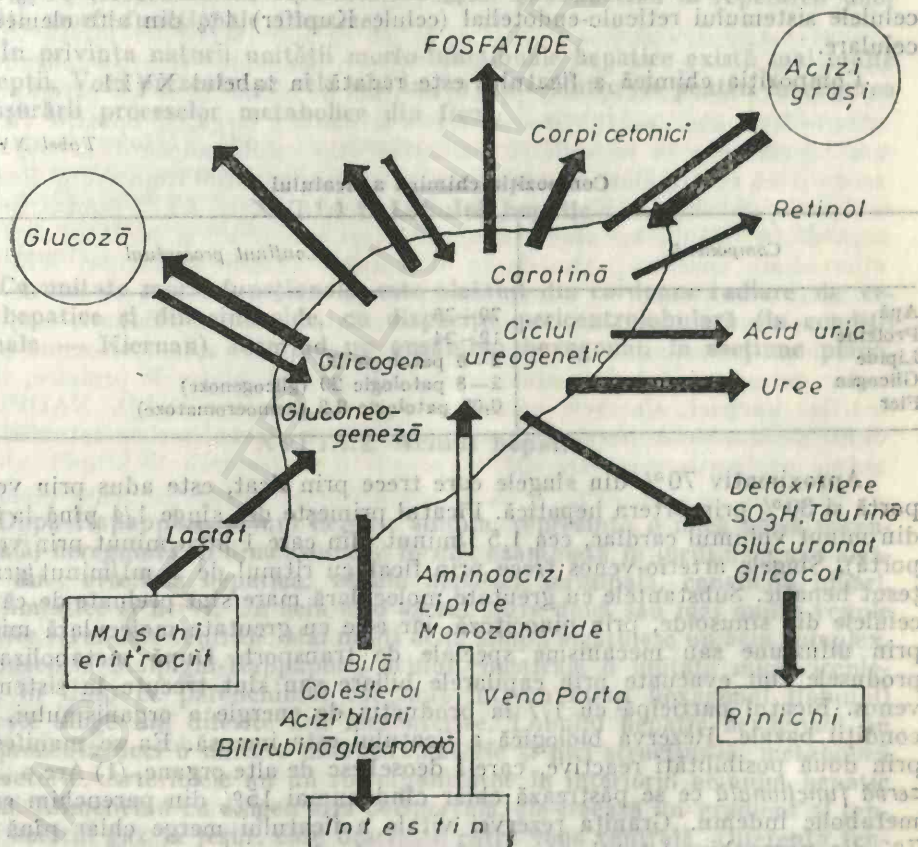


Fig. XVI.1 — Rolul central al ficatului în metabolismul intermediar.



soară, atît procesele energetice şi sintezele necesare vieţii celulare proprii, cît şi degradarea multora dintre componentele structurale şi funcţionale ale celoralte ţesuturi şi organe (fig. XVI.1). Poziţia sa anatomo-funcţională are două caracteristici şi anume:

— reprezintă staţiunea intermediară dintre vena portă şi circulaţia generală;

— alcătuieşte un sistem de strînsă interdependenţă cu plasma.

Toate substanţele resorbite din intestin, pe cale circulatorie, trebuie să treacă prin ficat. Aprovizionarea cu substanţele nutritive fiind discontinuă, concentraţiile substanţelor (exemplu glucoza şi aminoacizii) din vena portă sînt supuse unui regim de „flux şi reflux“. Dimpotrivă în circulaţia generală concentraţia substanţelor este în regim „homeostatic“. Ficatul intervine activ în reglementarea echilibrului dintre cele două regimuri de concentraţie, cel oscilant al venei porte şi cel evasiconstant al circulaţiei generale.

În interiorul ficatului circulaţia arterială şi cea venoasă portală se anastomozează. Un sistem de capilare şi sinusoidale (căi circulatorii deschise) conduc singele pentru alimentarea fiecărei celule şi se varsă în vena centro-lobulară.

Ţesutul hepatic este alcătuit 80% din celule parenchimatoase, 16% din celulele sistemului reticulo-endotelial (celule Kupffer) 4% din alte elemente celulare.

Compoziţia chimică a ficatului este redată în tabelul XVI.1.

Tabel XVI.1

#### Compoziţia chimică a ficatului

Componenţi	Conţinut procentual
Apă	70—75
Proteine	12—24
Lipide	2—6 patologic 20
Glicogen	2—8 patologic 20 (glicogenoze)
Fier	0,02 patologic 0,2 (hemocromatoze)

Aproximativ 70% din singele care trece prin ficat, este adus prin vena portă şi 30% prin artera hepatică. Ficatul primeşte din sînge 1/4 pînă la 1/3 din minut volumul cardiac, cca 1,5 l/minut (din care 1 litru/minut prin vena portă). Singele arterio-venos trece prin ficat cu ritmul de 1 ml/minut/gram ţesut hepatic. Substanţele cu greutate moleculară mare sînt preluate de către celulele din sinusoid, prin pinocitoză, iar cele cu greutate moleculară mică, prin difuziune sau mecanisme speciale de transport. După metabolizare, produsele sînt evacuate prin capilarele biliare sau sînt trecute în sistemul venos. Ficatul participă cu 1/7 la producţia de energie a organismului, în condiţii bazale. Rezerva biologică a ficatului este imensă. Ea se manifestă prin două posibilităţi reactive, care-l deosebesc de alte organe. (1) Are o „rezervă funcţională“ ce se păstrează chiar cînd numai 15% din parenchim este metabolic indemn. Graniţa rezervei vitale a ficatului merge chiar pînă la 7% din parenchimul total, ceea ce înseamnă că numai după distrugerea a 93% din parenchim, situaţia devine incompatibilă cu viaţa. (2) Ficatul are

o mare capacitate de regenerare. Experimental s-au realizat într-un an 12 hepatectomii subtotale (la șobolani), fără a se crea deficit funcțional. La om, Kalk a urmărit repetat laparoscopic, timp de doi ani, o hepatită cu atrofie galbenă, observind refacerea pînă la volumul inițial al ficatului.

## XVI.1. STRUCTURA MORFO-FUNCȚIONALĂ A FICATULUI

### XVI.1.1. UNITATEA MORFO-FUNCȚIONALĂ A FICATULUI

Din punct de vedere morfo-funcțional acest organ este caracterizat prin *simplitatea arhitectonică*, asociată cu o mare *complexitate metabolică*. Planul său de organizare structurală este relativ unitar și reductibil la repetarea unor unități morfo-funcționale identice.

În privința naturii unității morfo-funcționale hepatice există mai multe concepții. Vom prezenta pe cele mai importante dintre ele pentru înțelegerea desfășurării proceselor metabolice din ficat.

#### XVI.1.1.1. Lobulul hepatic

Ca unitate morfo-funcțională, este alcătuit din cordoane radiare de celule hepatice și din sinusoid, cu dispoziție pericentrolobulară (în condiții normale — Kiernan), formînd un ansamblu hexagonal, în secțiune plană.

#### XVI.1.1.2. Acinul hepatic

După Rapaport, acinul hepatic simplu, reprezintă o mică masă parenchimală, neregulată în dimensiune și formă, asamblată în jurul unei axe alcătuite din: arteriola hepatică, venula hepatică terminală, canaliculi biliari, vase limfatice și nervi. Un acin este așezat între două sau mai multe venule hepatice terminale centrale. Mai mulți acini simpli alcătuiesc un acin complex. În concepția Malpighi-Rapaport, acinul constituie o unitate microcirculatorie, în timp ce parenchimul conținut într-un cîmp hexagonal (lobulul) primește sînge din diferite arii mezenterice. Lobulul hepatic hexagonal nu ar reprezenta deci o unitate microcirculatorie și nici structurală, metabolică și secretorie. Arteriolele au un rol organizator în interiorul acinului hepatic simplu. Alimentînd cu oxigen aria periportală, ele creează un gradient al tensiunii acestui gaz în țesut, care descrește către venă centrală. Diferența tensiunii de oxigen între cele două zone, constituie premiza care conduce la împărțirea acinului în *trei zone microcirculatorii*, ce corespund unor *zonări meta-*



bolice. Zona 1, periportală are tensiunea cea mai ridicată a  $O_2$  iar zona 3 o are pe cea mai scăzută; zona 2 este intermediară din acest punct de vedere și ca potențial de activitate metabolică.

Fără a insista prea mult, se reamintește concepția *unității funcționale laminare* cu care se înrudește acea a *sinergidei* (Ziegmund) sau a hepatonului (denumit astfel prin analogie cu nefronul, unitatea morfo-funcțională renală). Hepatonul este format dintr-o lamelă de țesut hepatic și un sistem de sinusoides, orientate după gradientul de presiune, fie către vena centro-lobulară, fie către pachetul, vascular din spațiul portal, făcând și legătura dintre ele. Independent de concepția asupra naturii funcționale hepatice, la baza alcătuirii sale stă *hepatocitul*, cu trăsăturile structurale și metabolice caracteristice.

#### XVI.1.2. HEPATOCITUL : CARACTERE STRUCTURALE ȘI METABOLICE

Hepatocitul aparține tipului de celule cu activitate diferențiată variată, cu numeroase funcții denumite de D. Green „ancilare” (energo-dependente). Profilul său funcțional este exprimat în tipul de mitocondrie pe care-l posedă, caracterizat prin număr redus de criste și matrice largă, în opoziție cu celulele specializate în fosforilarea oxidativă (tip celula miocardică, bogată în criste și cu spațiu matriceal mic). Aparatul mitocondrial fiind sediul fosforilării oxidative, asigură prin compușii macroenergetici, tip ATP, puntea de legătură dintre planul metabolic nespecific (cel energetic) și acela al activității diferențiate specifice. Abundența sistemului adenilic (principal ATP) este factorul condiționant al numeroaselor reacții endergonice, ce se petrec la nivelul celulei hepatice ca: sinteza colesterolului, a acizilor biliari, conjugarea bilirubinei prehepatice, procesele de lipogenoză, activarea metioninei (ca donator de metil), ciclul ornitinei pentru ureogeneză, sintezele proteice, sinteza acizilor nucleici, sintezele cofactorilor și coenzimelor (NAD, NADP), procesele de inactivare hormonală, cit și multiplele mecanisme de detoxifiere (cu sistem enzimatic microsomal).

În ficat, mai mult decât în orice alt organ, interdependența metabolismelor hidraților de carbon, grăsimilor, proteinelor constituie o condiție indispensabilă a multiplicității sale funcționale. „Fondul metabolic” intracelular (metabolic pool) format din totalitatea compușilor de carbon cu moleculă mică conținând unu, doi, trei sau patru atomi de carbon ( $C_1^*$ ,  $C_2$ ,  $C_3$ ,  $C_4$ ) rezultați din procesele catabolice și utilizați ca piese de construcție în anabolism, este extrem de larg implicat în activitatea specifică a celulei hepatice. Alături de marea capacitate anabolizantă a celulei hepatice, trebuie subliniată în mod special *caracteristica sa energetică*, anume aceea de a degrada glucoza

\* Multipla utilizare a unităților de  $C_1$  sub forma activă a acidului formil-tetrahidrofolic (FTHA) și a variantelor sale mai ales a celor de  $C_2$  sub forma activată de acetil CoA sau a glicocolului (fond metabolic pentru sinteza porfirinelor, a purinelor, a pirimidinelor, a serinei și creatininei) și cu sfârșit unităților  $C_3$  glicerol, acid lactic — pentru sinteza glucogenului, sinteza ficatului ca centru de sinteză în economia organismului întreg.

într-o proporție însemnată (după Popper 75%, după Fischer și alții 50% sau în orice caz preponderent) pe calea șuntului hexozomonofosfaților, în timp ce alte țesuturi utilizează această cale printr-o măsură mult mai mică.

După cum s-a menționat în capitolul IX — privind glucidele, pe această cale de degradare a glucozei nu se formează concomitent ATP, dar se produce o altă componentă importantă,  $\text{NADPH}_2$ , necesară multor sinteze reductive (colesterol, acizi grași), cit și pentru acizii nucleici producând pentoze; de asemenea se obțin și compuși cu patru atomi de carbon (eritroza) și cu șapte atomi de carbon (sedoheptuloza), constituenți celulari importanți.

### XVI.1.3. PROFILUL ENZIMATIC HEPATIC

Se va contura integrarea enzimo-structurală și funcțională la nivelul ficatului, urmărind profilarea enzimatică pe trei trepte de organizare: hepatocitul, unitatea morfofuncțională hepatică și organul întreg. Metodele moderne analitice, bazate, în special, pe studii complexe de microscopie electronică, centrifugare diferențială cito, chimie enzimatică și a celorlalți constituenți cito-spectrofotometria și histo-spectrofotometria au dat posibilitatea conturării unui profil enzimo-structural la nivel celular sau la nivelul unității morfo-funcționale hepatice (lobulul sau acinul hepatic). Studiile efectuate experimental și clinic, pe omogenate și secțiuni în biopunctate și fragmente prelevate intraoperator, au condus la schematizarea unui profil enzimatic al ficatului normal și patologic a cărui reflectare umorală constituie unul din elementele de bază în explorarea modernă a sindromului biologic al afecțiunilor hepatice acute și cronice.

#### XVI.1.3.1. Hepatocitul

Dintre celulele animale și umane hepatocitele sînt poate cel mai bine studiate. Faptul se datorește atît disponibilității lor ușoare — chiar la om prin biopuncție hepatică, practică azi în mod curent — cit și ușurinței cu care elementele ultrastructurale (nucleii, mitocondriile, reticulul endoplasmatic, lizozomii, ribosomii), pot fi obținute prin centrifugarea diferențială a omogenatelor de ficat în sucroză (zaharoză).

Cu ajutorul metodei trasorilor izotopici s-a arătat (la șobolani) că hepatocitul prezintă caracteristica metabolică a celulelor ce se pot adapta rapid la schimbări în compoziția mediului nutritiv exogen, posedînd un dinamism reacțional foarte viu. Rata înaltă de sinteză a proteinelor este contrabalansată de o rată relativ ridicată de degradare. În continuare se fac unele precizări asupra compartimentării enzimelor la nivelul ultrastructurilor hepatice, cu indicarea secvenței metabolice în care ele activează (fig. XVI.2).

Subliniem faptul că distribuția biloculară a reacțiilor de catabolizare ale aminoacizilor cit și ale ciclului de sinteză a ureii între citosol și mitocondrii, realizează compartimentarea necesară pentru a preveni acumularea  $\text{NH}_3$  liber, toxic al sistemului nervos central la toate vertebratele ureotelice.



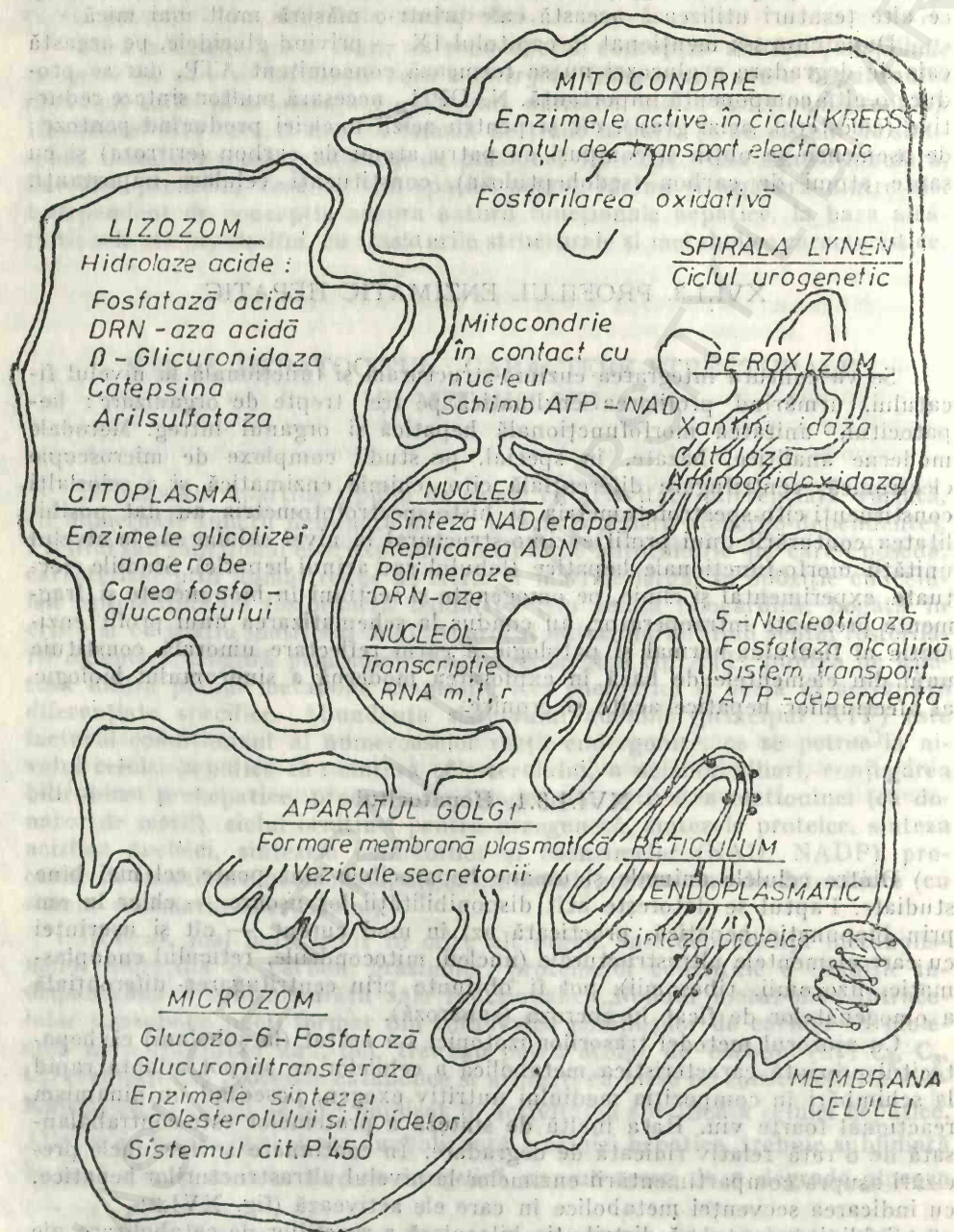
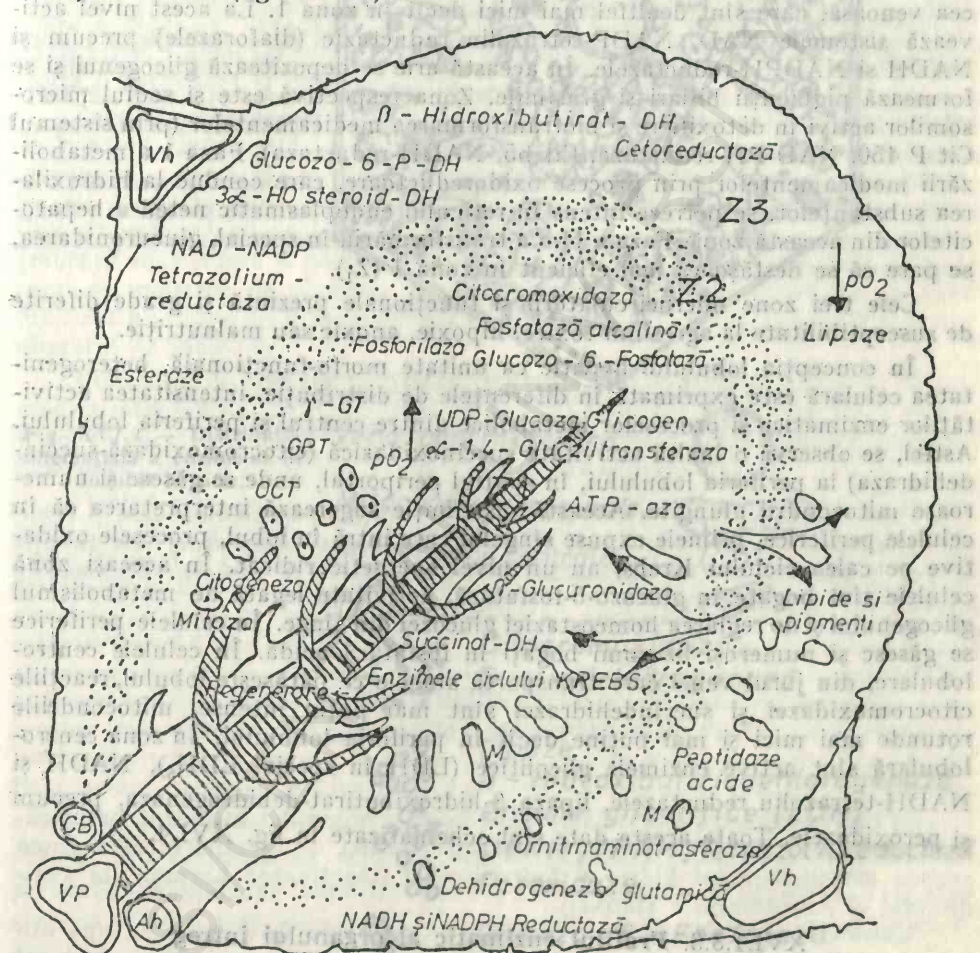


Fig. XVI.2 — Compartimentarea enzimelor la nivelul ultrastructurilor hepatice (adaptare după Lehninger).

### XVI.1.3.2. Unitatea morfo-funcțională a ficatului

Studiile de histo- și cito-chimie dovedesc eterogenitatea celulară în interiorul unității morfo-funcționale hepatice. Distribuția diferențială a enzimelor în interiorul celulelor traduce distribuția suporturilor structurale de care ele sînt legate. Integrînd hepatocitul în ansamblul unității morfo-funcționale a ficatului, fie că se acceptă acinul, fie că se menține conceptul de lobul hepatic, se observă că organizarea metabolică este strîns corălată cu direcția curentului sanguin. Astfel, în cazul acceptării acinului ca unitate morfo-funcțională, diferența de irigație arterială și de presiune parțială de  $O_2$  concordă cu o anumită distribuție zonală a activităților metabolice și enzimelor implicate în desfășurarea lor (fig. XVI.3).



VP = vena porta ; CB = canalicul biliar ; Ah = artera hepatică ;

Vh = vena hepatică ; M = mitocondrii ; L = lizozomi

Fig. XVI.3 — Distribuția zonală a activităților metabolice și enzimelor implicate în acinul hepatic (adaptare după Rappaport).



În zona 1 periportală, unde se deschid arteriolele, se găsesc mitocondrii mari, alungite, în care procesele oxidative pe calea ciclului Krebs se petrec la un nivel ridicat, ca sistem succin-oxidază foarte activ. Activitățile enzimatice implicate în glicogenază sînt foarte intense (glicogen sintetază = UDP-glucozo-glicogen  $\alpha$  1,4-glucoziltransferază-UDPGGT-fosforilaza, glucozo-6-fosfataza). Lizozomii numeroși bogați în hidrolaze acide, ca fosfataza acidă în special, facilitează în această zonă viteza de preluare și pinocitoză a materialelor aduse prin vena portă. Tot aceasta este zona activității intense în metabolismul proteic (sinteza proteinelor plasmatică). Zona 2 este o arie de tranziție, care se orientează funcțional către regimul zonelor 1 sau 3, în funcție de creșterea sau descreșterea fluxului arteriolar, în unitatea morfofuncțională respectivă. Zona 3 perivasculară, în care presiunea parțială a oxigenului este aproape de cea venoasă, care sînt de altfel mai mici decît în zona 1. La acest nivel activează sistemele NAD, NADP-tetrazoliu reductazic (diaforazele) precum și NADH și NADPH-reductazele. În această arie se depozitează glicogenul și se formează pigmenții biliari și grăsimile. Zona respectivă este și sediul microsomilor activi în detoxifiere și biotransformarea medicamentelor (prin sistemul Cit P 450, NAD PH-reductaza, Cit b5, NADH-reductaza). Faza I a metabolizării medicamentelor prin procese oxidoreductoare, care conduc la hidroxilarea substanțelor, se petrece intens în reticulul endoplasmatic neted a hepatocitelor din această zonă. Faza a II-a a transformării, în special, glucuronidarea, se pare că se desfășoară mai eficient în zona I ( $Z_1$ ).

Cele trei zone microcirculatorii și funcționale prezintă și grade diferite de susceptibilitate la agresiuni toxice, hipoxie, anoxie sau malnutriție.

În concepția lobulului hepatic ca unitate morfo-funcțională, heterogenitatea celulară este exprimată în diferențele de distribuție, intensitatea activităților enzimatice și proceselor metabolice dintre centrul și periferia lobulului. Astfel, se observă o înaltă activitate succinoxidazică (citocromoxidază-succindehidraza) la periferia lobulului, în spațiul periportal, unde se găsesc și numeroase mitocondrii alungite. Această distribuție sugerează interpretarea că în celulele periferice, primele expuse singelui care intră în lobul, procesele oxidative pe calea ciclului Krebs, au un nivel energetic ridicat. În aceeași zonă celulele sînt bogate în glucozo-6-fosfatază, activitate legată de metabolismul glicogenului și de reglarea homeostaziei glucozei din singe. În celulele periferice se găsesc și numeroși lizozomi bogați în fosfatază acidă. În celulele centrolobulare, din jurul venei care transportă singele ce părăsește lobulul, reacțiile citocromoxidazei și succindehidrazei sînt mai puțin intense, mitocondriile rotunde mai mici și mai puține decît în periferia lobulului. În zona centrolobulară sînt active enzimele glicolitice (LDH în special LDH<sub>5</sub>), NADH și NADH-tetrazoliu reductazele, lipaza  $\beta$ -hidroxibutirat-dehidrogenaza, precum și peroxidazele. Toate aceste date sînt schematizate în fig. XVI.4.

### XVI.1.3.3. Profilul enzimatic al organului întreg

Activitățile enzimatice hepatice, studiate experimental, pe omogenate și secțiuni, și clinic în biopunctate, au permis schematizarea unui profil enzimatic de ansamblu al ficatului normal și patologic, avînd ca fundament cerce-

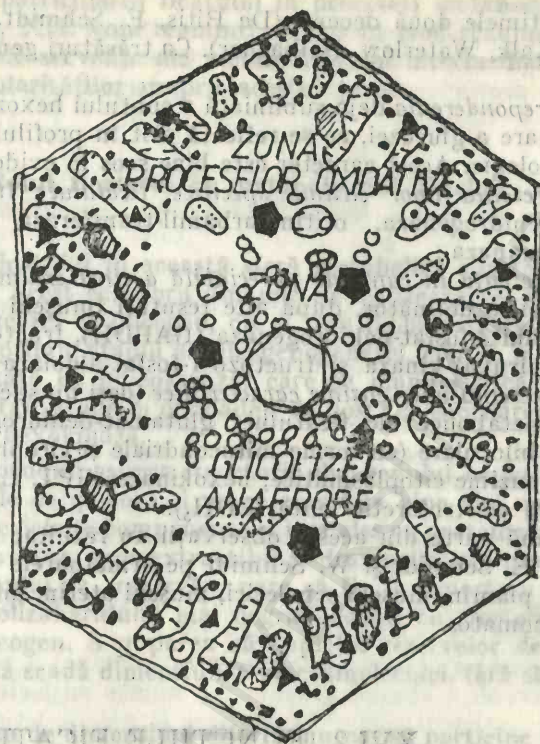
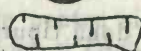


Fig. XVI.1 — Distribuția diferențială a enzimelor în lobulul hepatic.

Vena centrolobulară---



Mitocondrii marginale---



Mitocondrii centrale---



Lizozomi---



Citocromoxidază

Succindehidrogenază



Lipaze



̢-Hidroxiutaricdehidrogenază

Enzyme glicolitice (LDH)

DPNH, TPNH, Tetrazoliureductază



Peroxidaze



Glucoza-6-Fosfatază



Fosfatază acidă



LDH<sub>5</sub>



LDH<sub>1</sub>



tări de ultimele două decenii (De Ritis, E. Schmidt, V. Schmidt, Wildhirt, Popper, Kalk, Waterlow, Iselbacher). Ca trăsături generale, menționăm următoarele :

— *preponderența* deja subliniată a șuntului hexozomonofosfaților, ca mod de degradare a glucozei, ce se reflectă atît în profilul enzimatic normal cît și în cel patologic. Acest caracter este bine seos în evidență de Iselbacher ;

— *prezența unor enzime specifice ficatului* : fructozo-1-fosfat-aldolaza, sorbitol-dehidrogenaza, oritin-carbamil-transferaza (OCT), arginaza, urocanaza, guanaza ;

— *prezența în cantitate apreciabilă a cinci enzime glicolitice*, care fac din ficat al doilea deținător, după alte țesuturi (mușchi scheletic, eritrocite) de : gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza (GAPDH), fructozo-1-6-difosfat-aldolaza, enolaza, piruvat-kinaza și fructozo-1-fosfat-aldolaza ;

— *prezența unor enzime caracteristice* (deși nu specifice) multiplelor potențialități metabolice ale ficatului : glutamat-dehidrogenaza mitocondrială și 3 enzime biloculare (cu forme mitocondriale și citoplasmatiche) : GOT, ICDH, MDH : 3 enzime citoplasmatiche, hexokinaza, GPT, LDH (în special, forma sa moleculară electroforetic lentă, LDH<sub>5</sub>).

O bună parte din aceste observații au rezultat din studiile comparative făcute de E. Schmidt și W. Schmidt pe următoarele țesuturi și organe : ficat, pancreas, plămîn, mușchi scheletici, mușchi uterin, miocard, mucoasă gastrică, țesut sarcomatos.

## XVI.2. FUNCȚIILE FICATULUI ȘI BAZELE LOR MOLECULARE

Prin cele două tipuri de celule ale sale, celulele parenchimatose și acele ale sistemului reticulo-histocitar, ficatul îndeplinește complexele sale funcții ce pot fi grupate în trei mari categorii : *participarea la procesele metabolice ; secreția bilei ; detoxifierea.*

### XVI.2.1. PARTICIPAREA FICATULUI LA PROCESELE METABOLICE

În linii mari, bogata activitate biochimică a organului în cadrul metabolizării glucidelor, lipidelor și proteinelor este dublat de o importantă acțiune asupra metabolismului hidric și hidromineral (inactivarea hormonului anti-diuretic și a hormonilor steroizi).

Materialele primite de ficat prin vena portă, vin în contact cu una din cele două linii celulare importante din ficat — celulele parenchimatose și celulele SRH — unde, în funcție de natura lor, sînt supuse unei prelucrări adecvate. Astfel, substanțele inerte și particulele de dimensiuni mai mari sînt fixate în celulele lui Kupffer. Componentele chimice sînt metabolizate la nivelul celulelor parenchimatose.

Pentru a prezenta participarea ficatului la procesele metabolice expuse în capitolele IX, X, XI, XII, vom reaminti numai în mod rezumativ, rolul acestui organ în diferitele secvențe ale metabolismului intermediar și se va accentua asupra particularităților proprii acestui țesut.

#### XVI.2.1.1. Rolul ficatului în metabolismul glucidic

Rolul principal al ficatului în această sferă metabolică constă în asigurarea glucozei sanguine. Acest echilibru dinamic se realizează pe de o parte, atât prin depozitarea glucozei ca glicogen, cât și prin mobilizarea ei din acest rezervor. Reamintim că primul stadiu al glicogenogenezei, constă într-o fosforilare a glucozei, catalizată de glucokinază, care se manifestă ca o enzimă adaptativă, a cărei activitate scade în perioadele de post\*. Fosforilarea glucozei poate fi catalizată și de hexokinază.

Persistă unele incertitudini asupra structurii glicogenului hepatic, tipului de legătură între unitățile de glucoză și nu se cunoaște bine nici modul cum glicogenul se asociază cu celelalte componente și mai ales cu proteinele celulare. Se știe că există glicogen liber, ușor extractibil și desmoglecogen greu extractibil. Depunerea glicogenului ca „rezervă“, pare să fie în raport cu creșterea greutatei moleculelor a polizaharidului mai degrabă decât cu creșterea numărului de molecule de glicogen. S-ar părea că depleția rezervelor de glicogen din ficat n-ar face decât să scadă dimensiunea macromoleculei, fără să schimbe numărul de molecule.

Moleculele de glicogen de dimensiuni diferite nu par să participe în același mod la metabolism. Prin cercetări cu glucoză marcată, făcute pe ficat, se observă că incorporarea se face principal în moleculele de glicogen cu greutate moleculară mică (în timp ce în mușchi situația este inversă).

Ficatul este singurul organ ce poate să utilizeze pentru sinteza glicogenului, pe lângă glucoză și alte hexoze (fructoza, manoză și D-galactoza). Prezența în ficat a cetokinazei și a galactokinazei explică posibilitatea sintezei glicogenului, având ca punct de plecare D-fructoza\*\*. El este totodată și singurul organ ce poate asigura glicogen plecând de la acid lactic, glicerol sau alți metaboliți intermediari, provenind din lipide sau proteine. Este fenomenul cunoscut sub denumirea de gluconeogeneză. Reglarea acestor procese se face automat în ficat sau pe cale neuroendocrină, prin influențarea proceselor enzimatice care intervin în glicogenoză și glicogenoliză. Căile gluconeogenezei trec toate printr-o verigă comună, acidul oxaloacetic (din ciclul Krebs). În ficat acidul oxaloacetic este sintetizat prin fixarea directă a  $\text{CO}_2$  la piruvat, sau prin carboxilare catalizată de enzima malică (Salles și Ochoa) dar mai cu seamă prin carboxilarea acidului fosfoenolpiruvic, catalizată de fosfoenolpiruvat-carboxikinaza (sintetizată în ficat sub influența cortizonului). Reglarea sintezei și degradării glicogenului se face printr-un mecanism complex de interacții hormonale și reacții în „cascadă“.

\* Se notează de peste 50% din activitatea sa fosforilantă după două zile de post.

\*\* Printre probele de explorare funcțională hepatică s-a practicat în trecutul apropiat proba galactozuriei provocate, după administrare orală de galactoză.



În legătură cu participarea ficatului la metabolismul glucidelor, trebuie subliniată și capacitatea sa de a sintetiza heparină, substanță anticoagulantă, precum și prezența anumitor enzime implicate în metabolismul glico-proteinelor ca N-acetilglucozamin și N-acetilgalactozamin-kinaza.

#### XVI.2.1.2. Rolul ficatului în metabolismul lipidic

Ficatul joacă în metabolismul lipidic un rol deosebit de important, contribuind la realizarea tuturor stadiilor metabolice ale transformării și sintezei substanțelor grase. Bogăția în grăsimi a ficatului, cît și conținutul său ridicat în acizi grași nesaturați (dar cu o singură dublă legătură) constituie o trăsătură caracteristică. În același sens trebuie subliniată și marea bogăție a ficatului în CoA, indispensabilă oxidării și sintezei acizilor grași, sintezei colesterolului, degradării resturilor piruvice pe calea ciclului acizilor tricarboxilici. Importanța rolului pe care ficatul îl joacă în metabolismul lipidic este subliniat și de frecvența steatozei hepatice în tabloul anatomic-clinic al afecțiunilor hepatice.

Hepatocitul posedă capacități reactive care fac din ficat organul principal pentru realizarea următoarelor procese :

— *preluarea lipidelor alimentare* în principal a trigliceridelor, sub formă de chilomicroni, a acizilor grași cu un număr mijlociu de atomi de carbon în catenă ;

— *captarea acizilor grași* proveniți din lipidele țesutului adipos și vehiculați în albumina serică spre ficat ;

— *sinteza acizilor grași\** avînd drept sursă principală diverșii metaboliți intermediari glucidici, în special, triozo-fosfați metabolizați — mai departe — în acetyl-CoA. Acizii grași sintetizați sînt utilizați pentru formare de trigliceride, pe care hepatocitul le încorporează în pre- $\beta$ -lipoproteine (VLDL). Trigliceridele din aceste formațiuni sînt asociate cu esterii de colesterol și legate de fosfoaminolipide care — la rîndul lor — sînt unite cu moleculele de serină sau treonină din capetele N-terminale ale lanțurilor peptidice ale globulinelor respective ;

— *remanierarea metabolică a acizilor grași* privind : a) elongația lanțului de carbon (cu formare de acizi grași cu 24 atomi de C, ce intră în construcția sfingolipidelor) ; b) desaturarea, cu transformarea acidului linolenic în acid arahidonic și a acidului oleic în acid eicosatrienoic ; c) peroxidarea acizilor polinesaturați astfel formați, cu intervenția posibilă a peroxizilor lipidici în determinismul citosteatonecrozei ;

— *catabolismul acizilor grași* prin  $\beta$ -oxidare, procese ce solicită prezența a numeroși cofactori, carnitină și CaA sintetizat plecînd de la acid pantotenic și aminoacizi cu sulf (capitolul X) ;

\* Intensitatea sintezei acestora este direct proporțională cu disponibilitatea celulară în NADPH și NADH. Factorii ce determină creșterea nivelului de NADH, anoxia ce încetinește transformarea sa în NAD, precum și alcoolul etilic, a cărui oxidare prin AL-DH generează NADH, favorizează sinteza acizilor grași și apariția steatozei.

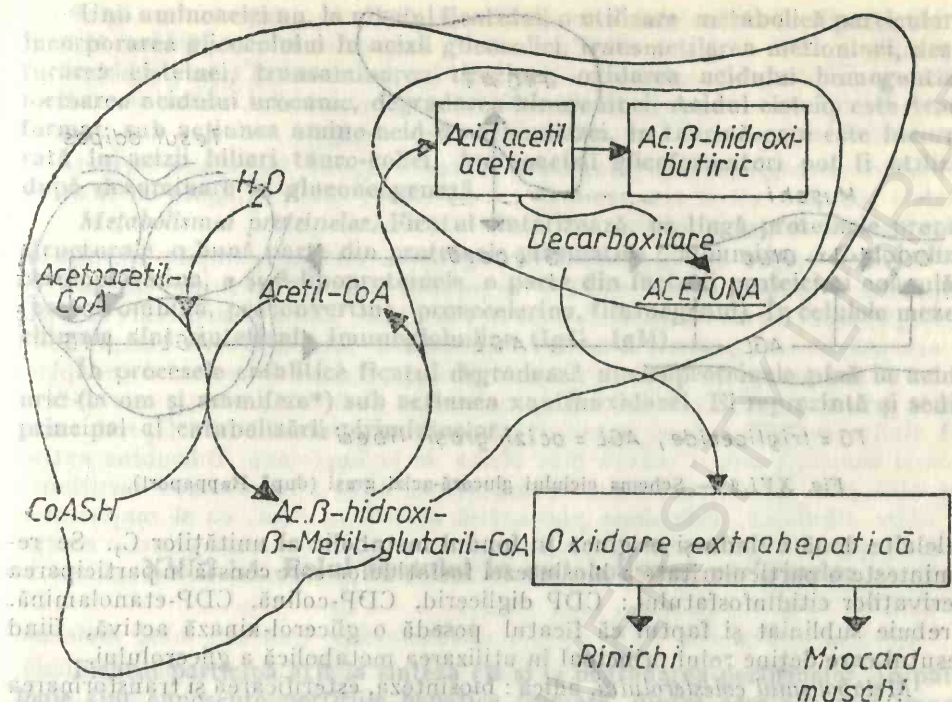


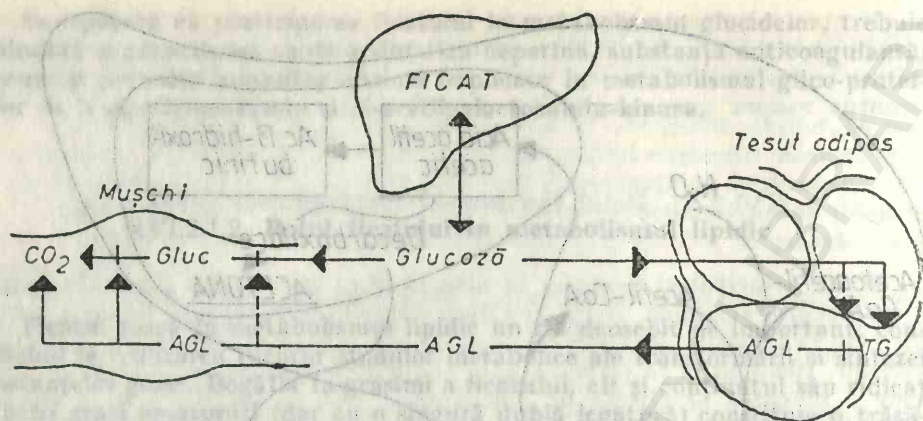
Fig. XVI.5 — Rolul ficatului în metabolismul corpurilor cetonice.

— formarea corpurilor cetonice ca rezultat al  $\beta$ -oxidării, cu formare de acid acetilacetic, a produsului său de reducere, acidul  $\beta$ -hidroxibutiric și a produsului său de decarboxilare, acetona. Corpii cetonici formați reprezintă substraturi cu mare valoare energetică, care sînt utilizați pe loc sau extrahepatic : mai ales în rinichi și miocard care-i catabolizează preferențial față de glucoză (fig. XVI.5).

Ficatul, împreună cu mușchiul și țesutul adipos este implicat în ciclul glucoză-acizi grași, a cărui importanță biologică ține de faptul că excesul de glucoză favorizează sinteza de trigliceride și inhibă liberarea acizilor grași, în timp ce în lipsă de glucoză fenomenul se petrece invers. Ciclul respectiv are o deosebită importanță pentru reglementarea dieteticii în cazurile de hiperlipoproteinemie de tip II<sub>b</sub> sau IV (fig. XVI.6).

**Metabolismul fosfatidelor.** Toate organele pot realiza biosinteza fosfatidelor proprii, însă ficatul este singurul organ ce le poate transmite în plasmă. Fosfatidele plasmatică sînt deci singurele de origine hepatică. Biosinteza fosfatidelor presupune însă etape anterioare, în care sînt produse componentele structurale ale acestor molecule complexe (glicerol sau sfingozină, acizi grași și o bază azotată, acidul fosforic fiind preluat, după hidroliză, din fosfații existenți în celulă). Această necesitate pune pe prim plan, la nivelul celulei hepatice, sinteza etanolaminei din serină-glicocol și a colinei din etanol amină, printr-un proces de metilare. Sursa principală a grupărilor metil este metionina, sub forma sa de metionină activă — „S-adenozin-metionină“. După unii autori numai una din grupările metil ale colinei ar proveni direct din S-adenozina metionină,





TG = trigliceride, AGL = acizi grași liberi

Fig. XVI.6 — Schema ciclului glucoză-acizi grași (după Rappaport).

celelalte două avându-și originea în fondul metabolic al unităților  $C_p$ . Se reamintește o particularitate a biosintezei fosfatidelor care constă în participarea derivaților citidinfosfatului: CDP diglicerid, CDP-colină, CDP-etanolamină. Trebuie subliniat și faptul că ficatul posedă o glicerol-kinază activă, fiind țesutul care deține rolul principal în utilizarea metabolică a glicerolului.

**Metabolismul colesterolului**, adică: biosinteza, esterificarea și transformarea sa în acizi biliari, sînt prezentate în cap. X. Hepatocitul este sediul principal al biosintezei colesterolului din acetat activ (acetil CoA), așa cum s-a arătat.

În organism se sintetizează 1,50—2 g colesterol, sinteza endogenă depășind aportul exogen. Două treimi din cifra colesterolemiei este de natură endogenă; o treime este esterificată sub acțiunea lecitin-colesterol-acil-transferazei.

### XVI.2.1.3. Rolul ficatului în metabolismul proteic

Intervenția ficatului în metabolismul proteic este de cea mai mare importanță. Ea se exercită în două direcții vitale pentru organism:

**Metabolismul aminoacizilor.** Degradarea aminoacizilor se face cu reutilizarea și integrarea amoniacului provenit din dezaminări, în uree și glutamină, pe calea ciclului ornitinei (Krebs-Henseleit), specific ficatului și a formării amidei acidului glutamic (glutamina) sub acțiunea glutaminsintetazei. Acest din urmă proces de neutralizare constituie însă și mecanismul principal de îndepărtare a amoniacului, la nivelul creierului. Tulburarea mecanismelor de îndepărtare a amoniacului duce la instalarea encefalopatiei porto-cave. Ficatul de altfel, este singurul organ pentru care conținutul în amoniac este mai scăzut în singele eferent, decît în cel aferent, datorită intensei acțiuni de blocare a  $NH_3$  pe calea ciclului ureogenetic.

Etapă specific hepatică a procesului este transformarea ornitinei în citrulină, sub acțiunea OCT (ornitincarbamil-transferazei). Transformarea citrulinei în arginină se poate realiza și la nivelul rinichiului.

Unii aminoacizi au, la nivelul ficatului, o utilizare metabolică particulară : incorporarea glicocolului în acizii glicocolici, transmetilarea metioninei, desulfurarea cisteinei, transaminarea tirozinei, oxidarea acidului homogentizic, formarea acidului urocanic, degradarea kinureninei. Acidul cistic este transformat, sub acțiunea amino-acid-decarboxilazei, în taurină care este încorporată în acizii biliari tauro-colici. Aminoacizii glicoformatori pot fi utilizați după dezaminare în gluconeogeneză.

**Metabolismul proteinelor.** Ficatul sintetizează, pe lângă proteinele proprii, structurale, o bună parte din proteinele plasmatice : albumine,  $\alpha$ -2-globulina-ceruloplasmina,  $\alpha$  și  $\beta$ -lipoproteinele, o parte din factorii proteici ai coagulării (prototrombina, proconvertina, proaccelerina, fibrinogenul). În celulele mezenchimale sînt sintetizate imunoglobuline (IgG, IgM).

În procesele catalitice ficatul degradează nucleoproteinele pînă la acidul uric (la om și mamifere\*) sub acțiunea xantinoxidazei. El reprezintă și sediul principal al catabolizării pirimidinelor.

#### XVI.2.1.4. Rolul ficatului în metabolismul porfirinelor

Ficatul participă atât la sinteza cît și la degradarea porfirinelor. În patologie sînt cunoscute porfiriile hepatice primare, dintre care cea mai importantă „porfirie cutanea tardă”, caracterizată prin hipersinteză și eliminare urinară de uro- și copro-porfirina. I. În hepatite și ciroze apar coproporfirinurii secundare cu izomeri de tip I, iar în intoxicațiile alcoolice și ciroza etilică izomeri de tip III.

**Producerea bilirubinei.** Produsul principal al degradării porfirinelor este bilirubina, pigmentul biliar roșu-oranj care posedă încă cele patru inele pirolice. În plasmă pigmentul circulă ca bilirubină totală, alcătuită din două componente : bilirubina legată de albumină, neconjugată, denumită indirectă și bilirubina glucuronată (mono- și diglucuronată) liberă, numită directă, în raport cu reacția de diazotare, Hijmans Van Den Bergh. Nivelul bilirubinei totale în serul normal este 0,1—1,2 mg % sau 17  $\mu$ moli/l. În condiții normale bilirubina provine 85 % din degradarea hemoglobinei eritrocitare iar restul de 15 % își are originea în degradarea altor hemproteine ca : mioglobina, citocromii și alte enzime hemice (catalaze, peroxidaze, citocromoxidaze).

Bilirubina directă (conjugată cu acid glucuronic) circulă liberă în sînge. Bilirubina indirectă (primară, neconjugată) este transportată prin legare cu albumina, parțial sub forma de complex albumină-fosfatide și în cantități mici legată și de metale, aminoacizi, peptide sau alte molecule mici. În bilă se găsesc esterii de bilirubină cu acizii sulfuric și acizii aldobiuronic, pseudo-aldobiuronic și hexuronozilhexuronici. Prin legarea bilirubinei la fibrele elastice ale pielii și conjunctivei se produce simptomul icter (îngălbenirea pielii și conjunctivelor).

\* Acizii nucleici sînt degradați pînă la alantoină la alte specii, care prin degradări succesive ajung la uree și acid glicoxilic.



Producția de bilirubină este de 35 mg dintr-un gram de hemoglobină, obținându-se 250—300 mg bilirubină zilnic. Degradarea hemoglobinei la bilirubină se realizează în celulele stelate Kupffer din sistemul reticulo-histocitar (SRH) hepatic care reprezintă sediul principal al procesului, splina și măduva osoasă fiind organe care iau parte la această activitate.

**Glucuronoconjugarea și eliminarea bilirubinei.** Atât bilirubina formată în celulele Kupffer, cât și cea produsă extrahepatic, este conjugată în ficat cu acidul glucuronic și eliminată prin bilă în intestin.

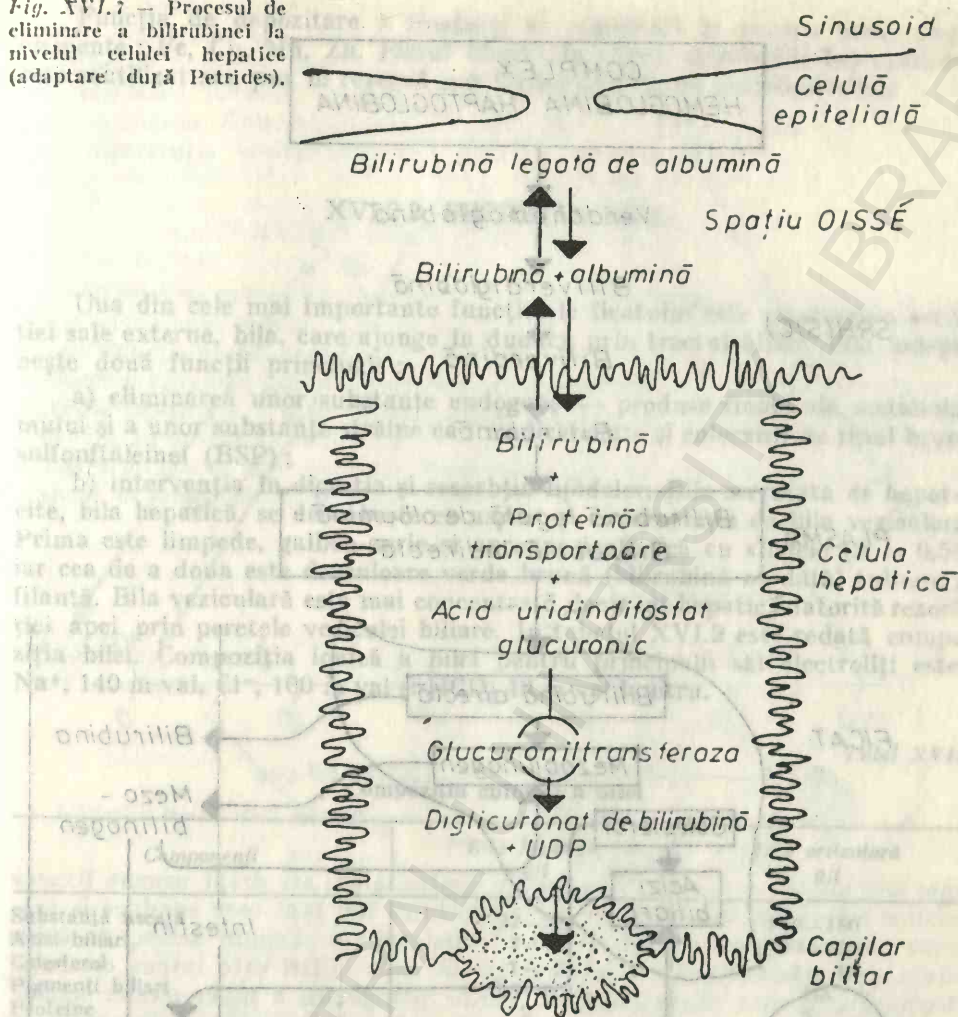
Primele trepte ale degradării hemoglobinei nu sînt complet clarificate. După unele ipoteze prima etapă a degradării inelului porfirinic dă naștere verdoglobinei care se transformă apoi în bilirubină. După interpretări mai noi se acceptă ca mai probabilă inițierea procesului prin liberarea hemului sub formă de hematină. Oxidarea în biliverdină s-ar produce în reticulul endoplasmatic prin sistemul Cit P-450 cu  $O_2$  molecular. În această reacție s-ar elibera CO. Reducerea biliverdinei în bilirubină s-ar face printr-o NADPH<sub>2</sub> reductază a cărei sinteză poate fi indusă prin oferta de hemoglobină. Bilirubina extrahepatică (sau prehepatică) este transportată, după cum s-a mai menționat, de către albumină. Bilirubina plasmatică ajunsă în ficat, ca și majoritatea celei de proveniență locală, este conjugată cu acidul glucuronic printr-o reacție UDP-dependentă, ce va fi prezentată în cadrul procesului de detoxifiere la nivelul ficatului.

Enzima activă este UDP-glucuroniltransferaza. Una sau două molecule de acid glucuronic sînt esterificate cu resturile de acid propionic din bilirubină. În cantitate mică bilirubina este eliminată liberă în bilă, unde împreună cu cea glucuronată reprezintă principalii pigmenți biliari (alături de mezobilinogen cca 10%).

În procesul de eliminare a bilirubinei la nivelul celulei hepatice joacă un rol important o proteină transportoare, ligandina (greutate moleculară 44 000), ea reprezintă cca 6 % din totalul proteinelor hepatice. Prin glucuronare bilirubina este trecută în forma hidrosolubilă de glucuronat de bilirubină, ce se elimină normal prin bilă, iar în situații patologice și prin urină (fig. XVI.7).

În intestin, bilirubina este redusă sub acțiunea bacteriilor intestinale, cu formare de bilani, stercobilinogen și N-urobilinogen (mezobilinogen). Prin retroresorbție în intestinul subțire urobilinogenul este degradat în ficat. Într-un produs dipirolic (propendiopent). O mică parte din urobilinogen este eliminat în urină în cantitate de 0,64 mg—4 mg/24 h. Cea mai mare parte este eliminată prin fecale 40—280 mg/24 h. Stercobilinogenul este retroresorbit în intestinul gros, transportat și eliminat prin rinichi. *Oxidarea bilanilor în bilene* (mezobilină, urobilină, stercobilină) dau fecalelor culoarea brună, la care contribuie și mezobilifuscina, produs de polimerizare al compusului dipirolic. Prin alternanța și echilibrul dinamic dintre procesele de retroresorbție în intestin și de eliminare prin bilă și urină (urobilinogen), se stabilește un circuit enterohepatic pentru bilirubina glucuronată și mezobilinogen. În fig. XVI.8 este redat metabolismul bilirubinei cu circuitul menționat, împreună cu acela al colesterolului și acizilor biliari.

Fig. XVI.7 — Procesul de eliminare a bilirubinei la nivelul celulei hepatice (adaptare după Petrides).



Rolul ficatului în metabolismul hormonilor și al vitaminelor este prezentat în alte capitole. Este de subliniat totuși rolul ficatului ca organ de depozitare a unor vitamine, precum și ca sediu al degradării unor hormoni (hormon antidiuretic). Niacina (acidul nicotinic și amida acidului nicotinic) activă ca vitamină, joacă un rol fundamental în metabolismul celular ca piatră de construcție pentru coenzimele NAD și NADP, implicate în activitatea multor dehidrogenaze. Ficatul este una din cele mai bogate surse alimentare de niacină conținând 10—25 mg/100 g masă țesut proaspăt.

Carotenele, provitaminele A, sint transformate în vitamina A și aceasta este depozitată în ficat ca esteri cu acizi grași. De asemenea, vitamina D, vitamina B<sub>12</sub> și vitamina K se depozitează tot în acest organ.



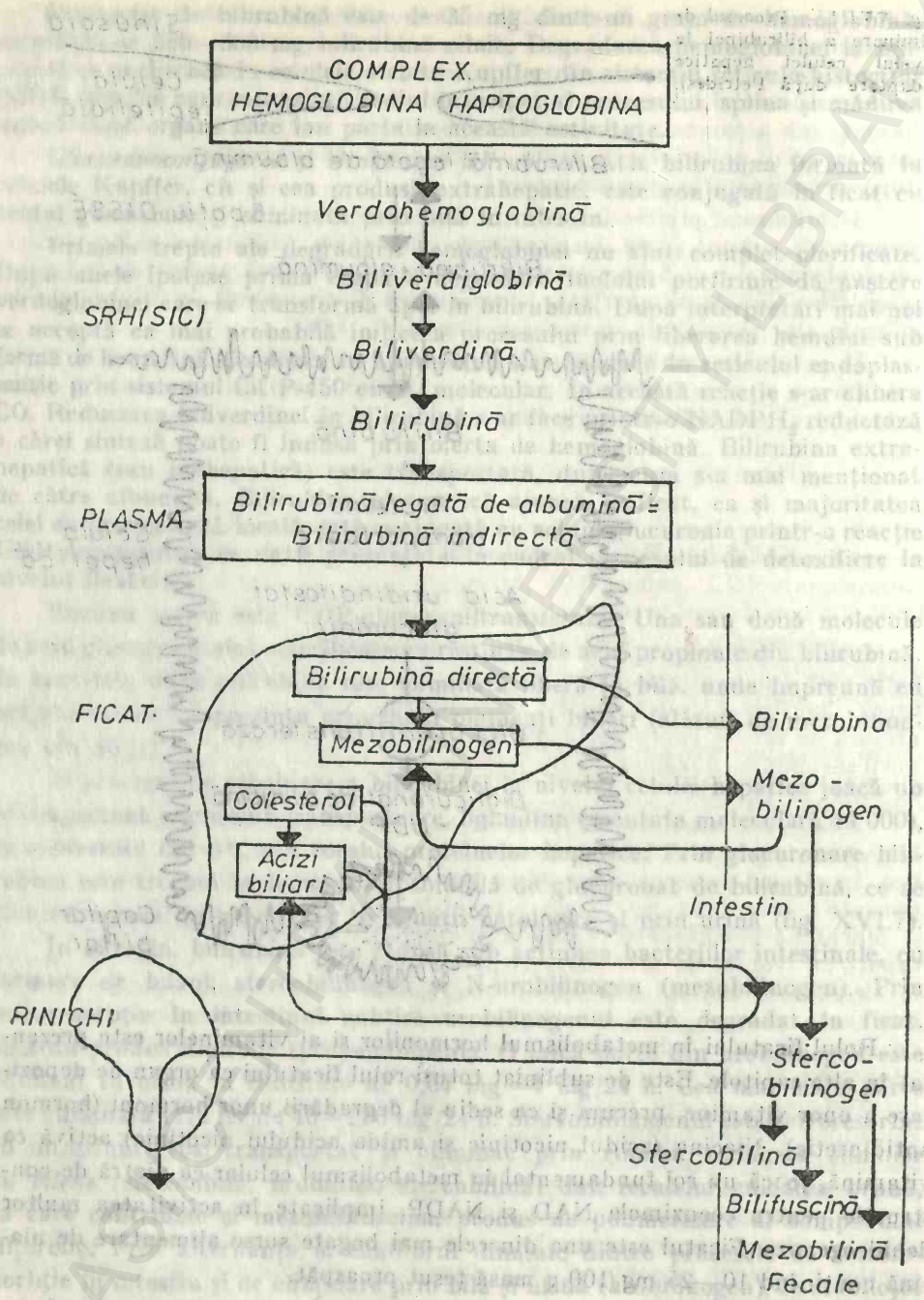


Fig. XVI.8 — Metabolismul bilirubinei; circuitul enterohepatic al bilirubinei glucuronate și mezobilinogenului (după Rappaport).

Funcția de depozitare a ficatului se manifestă și pentru unele oligo-elemente : Fe, Cu, Mn, Zn. Fierul liberat în cursul degradării hemoglobinei este reutilizat sau pus în rezervă sub forma de feritină (hemosiderină).

## XVI.2.2. SECREȚIA BILEI

Una din cele mai importante funcții ale ficatului este producerea secreției sale externe, bila, care ajunge în duoden prin tractul biliar. Bila îndeplinește două funcții principale :

a) eliminarea unor substanțe endogene — produse finale ale metabolismului și a unor substanțe străine ca : medicamente și coloranți de tipul brom-sulfonftaleinei (BSP) ;

b) intervenția în digestia și resorbția lipidelor. Bila secretată de hepatocite, bila hepatică, se deosebește ca aspect și concentrație de bila veziculară. Prima este limpede, galben-aurie și aproape izotonică cu singele ( $\Delta = 0,54$ ) iar cea de a doua este de culoare verde brună (bilirubină oxidată) tulbure și filantă. Bila veziculară este mai concentrată decît cea hepatică datorită rezorbției apei prin peretele veziculei biliare. În tabelul XVI.2 este redată compoziția bilei. Compoziția ionică a bilei pentru principalii săi electroliți este :  $\text{Na}^+$ , 140 m val,  $\text{Cl}^-$ , 100 m val și  $\text{HCO}_3$  40 m val la litru.

Tabel XVI.2

Compoziția chimică a bilei

Compoziții	Bilă hepatică g/l	Bilă veziculară g/l
Substanță uscată	22—33	140—180
Acizi biliari	7—14	90—120
Cholesterol	1—2	3—10
Pigmenți biliari	0,3—0,6	1,5
Proteine	2	5

Cantitatea de bilă secretată în 24 de ore este de 500—1 000 ml iar sinteza zilnică a acizilor biliari componenți esențiali ai bilei, atinge în total 200—500 mg. Acizii biliari, ajunși cu bila în duoden, sînt rezorbiți în proporție mai mare de 90% în ileon, cu ajutorul unui sistem de transport activ și readuși la ficat prin vena portă. Aici sînt reutilizați în secreția bilei. Circulația entero-hepatică a acizilor biliari se petrece cu viteză mare, așa încît cantitatea totală a acestora intră în circulație de 6—10 ori. Dintre toate componentele bilei, se vor face referiri speciale la acizii biliari datorită importanței rolului pe care-l joacă în metabolism și digestie. Acizii biliari prezenți în bila umană sînt : acidul colic (25—60% din valoarea globală), acidul chenodezoxicolic (30—50%), acidul dezoxicolic (5—25%) și acidul litocolic (cca 5%). Sinteza lor din colesterol a fost prezentă în cap. VIII ; ei reprezintă o formă de eliminare a nucleului steric. Intervin în reglarea sintezei colesterolului. Administrarea



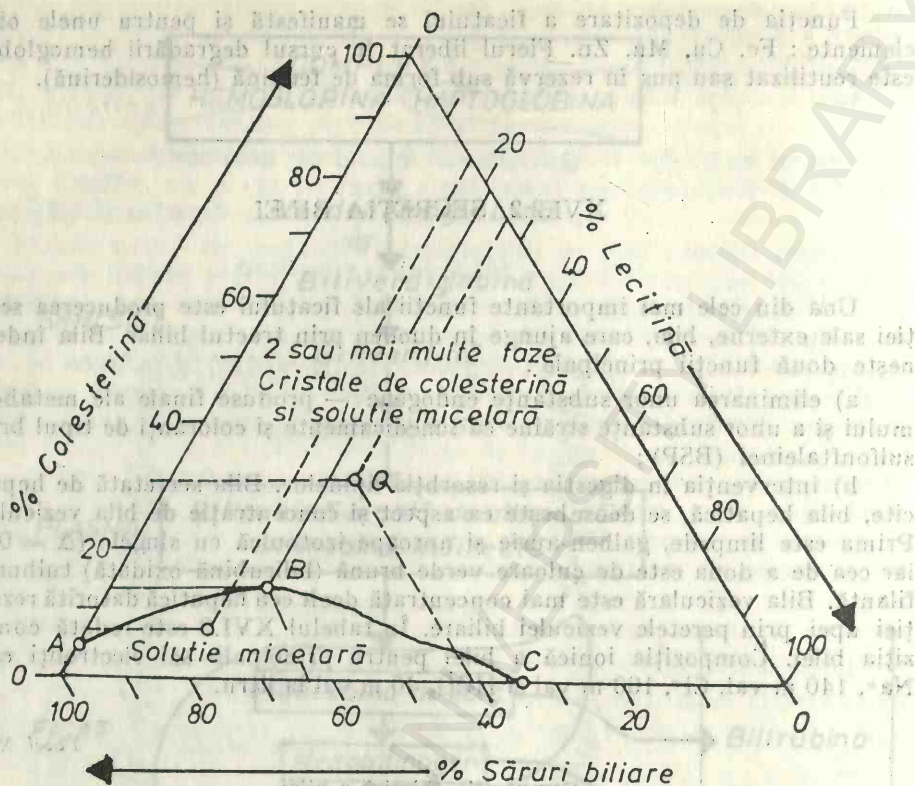


Fig. XVI.9 — Formarea soluției micelare a colesterolului cu acizi biliari și lecitină din bilă.

unui schimbător de ioni nerezorabil (colestiramina) are drept urmare fixarea acizilor biliari, cu împiedicarea retrorozorbției lor, fapt care conduce la scăderea sintezei colesterolului. Nivelul colesterolului sanguin scade, deoarece viteza de transformare a colesterolului în acizi biliari este intens crescută. Mecanismul acesta este aplicat în terapia patogenică a hipercolesterolemiei. S-a aplicat de asemenea și tratamentul chirurgical al hipercolesterolemiei prin îndepărtarea ileonului ca loc de retrorozorbție a acizilor biliari. Un alt rol important al acestor acizi în bilă este acela de mediator al solubilizării colesterolului deoarece colesterolul este practic insolubil în medii apoase. Precipitarea lui este împiedicată numai prin formarea unei soluții micelare, cu acizii biliari și lecitina din bilă. Această corelație este reprezentată în fig. XVI.9. Diagrama în coordonate triunghiulare dă posibilitatea evaluării solubilității maxime a colesterolului în bila veziculară.

Diagrama este construită pe baza cercetărilor experimentale, referitoare în raportul dintre amestec de acizi biliari, lecitină și colesterol în apă. Se deduce că toate compozițiile de bilă care situează concentrația colesterolului deasupra liniei ABC conduce la formarea cristalelor de colesterol ce pot constitui nucleul calculilor biliari. Schimbările compoziției bilei, cu dezechilibrul celor trei factori implicați, ar reprezenta un factor patogenie important în litogeneza biliară.

În digestia grăsimilor acizii biliari din bilă datorită proprietăților tensio- active, contribuie la formarea miceliilor de săpunuri ai acizilor grași și mono- gliceridelor rezultate sub acțiunea lipazei pancreatice în intestin.

Reglarea formării bilei se face prin hormonul tisular, colecistokinină, pancreozimină. Colereticele stimulează secreția biliară, iar substanțele cola- gene contractă vezicii biliare.

### XVI.2.3. FUNCȚIA DE DETOXIFIERE

În ficat se petrec numeroase transformări metabolice care fac nevătămă- toare atât unele substanțe proprii, cât și unele străine care pătrund în orga- nism. Funcția aceasta se exercită în două moduri ce se pot asocia și completa : reducerea toxicității (de ex. a amoniacului prin captarea în ciclul ureo-genetic, specific ficatului) și mărirea capacității de eliminare a produsului prin urină sau bilă. În esență mecanismele de detoxifiere măresc polaritatea substanțelor, transformându-le din compuși liposolubili, în componente cu un grad mai ridicat de hidrosolubilitate (fig. XVI.10).

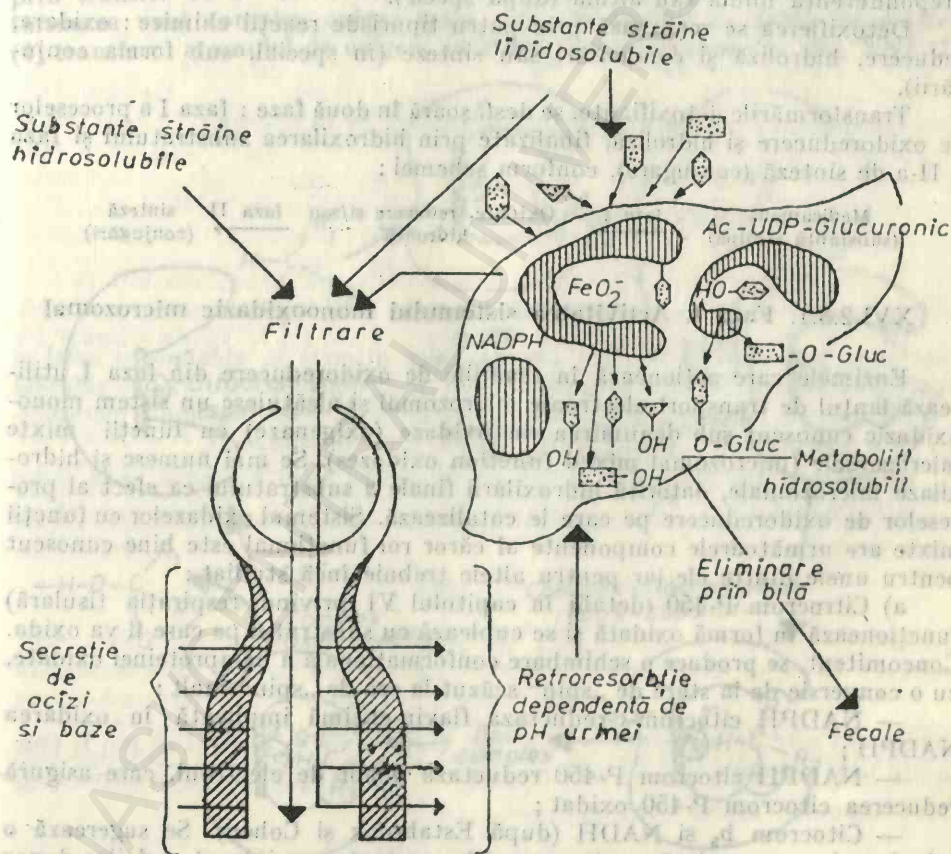


Fig. XVI.10 — Transformarea componentilor liposolubili în componenți cu un grad mai mare de hidro-solubilitate. Cooperarea hepato-renală în procesul de detoxifiere.



Procesele de detoxifiere, ce se petrec în ficat au câteva trăsături caracteristice:

— *nu sînt selective și nu sînt dirijate de o finalitate prestabilită și exclusivă.* Ele nu sînt obligatoriu „detoxifilante“, după cum răspunsul imun nu este obligatoriu de apărare, ci poate fi direct patogen (imunopatologic);

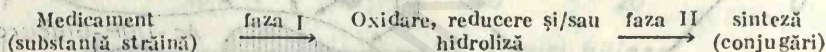
— *o bună parte din enzimele active implicate în detoxifierea substanțelor străine, au o foarte mică specificitate față de substrat.* Substanțele endogene și cele străine (medicamente de ex.), ce prezintă asemănări structurale cu aceasta, sînt metabolizate de enzimele denumite normale, biochimice sau parametabolice. Majoritatea medicamentelor și o parte din substanțele străine sînt metabolizate de enzime denumite xenobiotice, mai puțin numeroase și nespecifice. Cel mai important sistem din această categorie enzimatică este acela unic și universal al oxidazelor (oxigenazelor) cu funcții mixte (OFMN — D. Bedeleanu). Acestea se găsesc normal în stare inactivă și pot fi induse sub acțiunea substanței străine (medicamentului) ce urmează a fi metabolizat.

Mecanismele de detoxifiere funcționează și în metabolismul normal, pentru elaborarea de „excrete“ normale, din organism;

O substanță este inactivată prin mai multe mecanisme concurente, cu preponderența unuia sau altuia (după specie).

Detoxifierea se realizează prin patru tipuri de reacții chimice: oxidare, reducere, hidroliză și condensări sau sinteze (în special, sub forma conjugării).

Transformările detoxifiante, se desfășoară în două faze: faza I a proceselor de oxidoreducere și hidroliză, finalizate prin hidroxilarea substratului și faza a II-a de sinteză (conjugare), conform schemei:



### XVI.2.3.1. Faza I. Activitatea sistemului monooxidazic microzomal

Enzimele care acționează în reacțiile de oxidoreducere din faza I utilizează lanțul de transport electronic microzomal și alcătuiesc un sistem monooxidazic cunoscut sub denumirea de oxidaze (oxigenaze) cu funcții mixte microzomale (microzomal mixed function oxidases). Se mai numesc și hidroxilaze microzomale, datorită hidroxilării finale a substratului ca efect al proceselor de oxidoreducere pe care le catalizează. Sistemul oxidazelor cu funcții mixte are următoarele componente al căror rol funcțional este bine cunoscut pentru unele dintre ele iar pentru altele trebuie încă studiat:

a) Citocrom P-450 (detalii în capitolul VI privind respirația tisulară) funcționează în formă oxidată și se cuplează cu substratul pe care îl va oxida. Concomitent, se produce o schimbare conformațională a hemproteinei oxidate, cu o conversie de la stare de „spin“ scăzut la cea de „spin“ înalt;

— NADPH citocrom-c-reductaza flavin-enzimă implicată în oxidarea NADPH;

— NADPH citocrom P-450 reductaza donor de electroni, care asigură reducerea citocrom P-450 oxidat;

— Citocrom  $b_5$  și NADH (după Estabrook și Cohen). Se sugerează o cale de reducere asociată cu citocromul  $b_5$ , ce poate servi drept al doilea donor de electroni către citocromul P-450.

b) Fosfatidil-colina intră în alcătuirea membranei microzomale și este esențială pentru transferul de electroni de la NADPH citocrom-c-reductază la citocromul P-450 (1976). Unele studii arată că fosfolipida ar fi necesară pentru legarea substratului la citocromul P-450. Ea pare să joace un rol și în fenomenul de inducție a citocromului P-450 prin fenobarbital.

Dintre toate aceste componente, citocromul P-450 este elementul principal și caracteristic metabolizării microzomale a xenobioticelor. Există două forme de citocrom P-450 hepatic, cu specificitate de substrat diferită. Recent (1974) este subliniată formarea unui complex intermediar, substrat „citocrom P-450-oxigen“, cu maximum de absorbție spectrală la 440 nm, care ia  $e^-$  de la NADH. Pe baza criteriilor spectrale s-au stabilit două tipuri de medicamente ce reacționează cu citocromul P-450: tipul I (majoritatea medicamentelor) caracterizat prin modificarea spectrului citocromului P-450; cu un minim la 240 nm și un maxim la 385 nm; tipul II, cu minimum la 390 nm și maximum 430 nm (fenazina, anilina, nicotinamida). Ciclul reacțiilor în care activează citocromul P-450, trece prin patru faze: (1) legarea substratului la citocromul P-450 cu schimbarea conformațională a hemproteinei și trecerea de la starea de „spin“ scăzut, la starea de „spin“ înalt; (2) reducerea fierului citocromic prin transfer de  $e^-$  de la NADPH<sub>2</sub>-reductaza; (3) activarea oxigenului cu formarea unui complex oxigen activ, adus la stadiul de anion superoxid; (4) transferul atomului de oxigen, cu hidroxilarea substratului (fig. XVI.11).

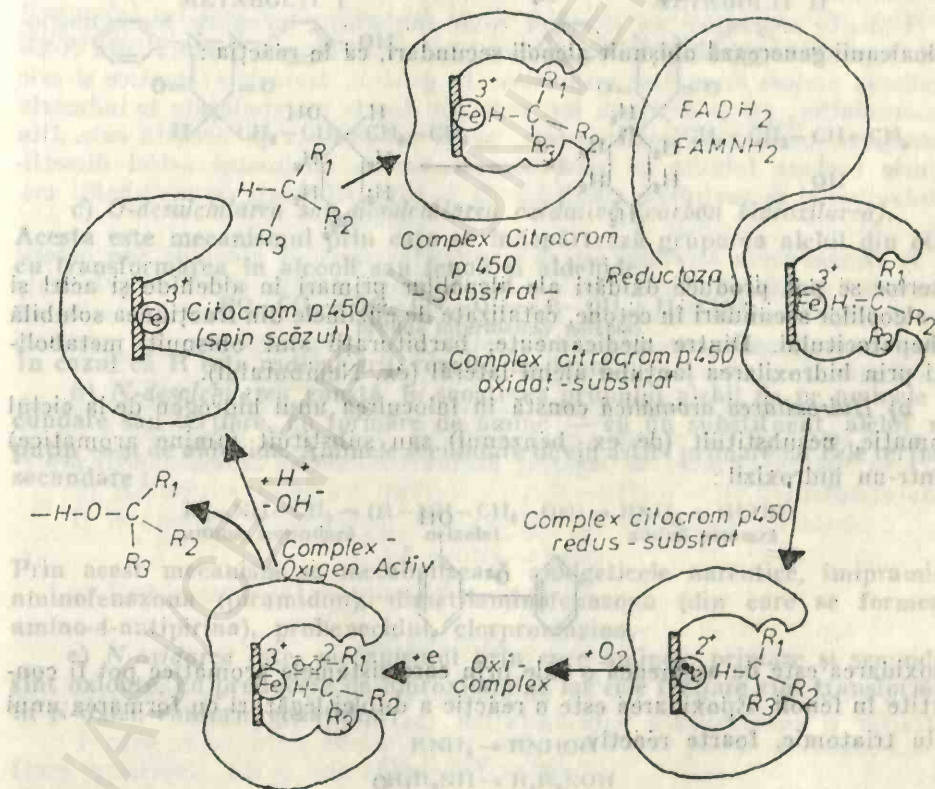


Fig. XVI.11 — Ciclul reacțiilor în care activează citocromul P.450.

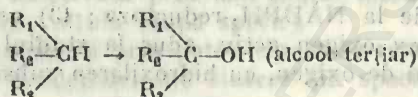
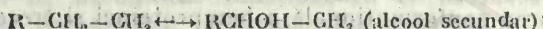
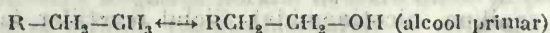


Sistemul de oxidare microzomală realizează o gamă largă de reacții, bazate pe oxidoreduceri și hidroliză, finalizate prin hidroxilarea substratului, ce vor fi prezentate mai departe. În cursul acestor reacții sînt introduse în molecula substanței metabolizate grupări reactive ca : hidroxil (OH), carboxil (COOH), amino (NH<sub>2</sub>) sulfhidril (SH). Aceste grupări permit transformările din faza a doua de sinteză, preponderent reacțiile de conjugare.

Principalele reacții enzimaticе din faza I sînt :

Oxidări. Oxidările biologice pot cuprinde o gamă variată de reacții dintre care foarte multe pot fi încadrate într-un mecanism comun, hidroxilarea.

a) *Hidroxilarea alifatică (aciclică sau a lanțului alchil) și a cicloalcanilor.* Lanțurile alifaticе sînt oxidate cu producere de alcool primar, secundar, și terțiar:

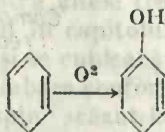


Cicloalcanii generează obișnuit alcooli secundari, ca în reacția :

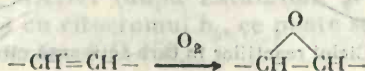


Ulterior se pot produce oxidări ale alcoolilor primari în aldehyde și acizi și ale alcoolilor secundari în cetone, catalizate de enzimele din fracțiunea solubilă a hepatocitului. Dintre medicamente, barbiturații sînt obișnuit metabolizați prin hidroxilarea lanțului alchil lateral (ex. Nembutalul).

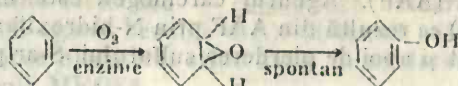
b) *Hidroxilarea aromatică* constă în înlocuirea unui hidrogen de la ciclul aromatic, nesubstituit (de ex. benzenul) sau substituit (amine aromatice) printr-un hidroxizil :



Epoxidarea este de asemenea o cale prin care sistemele aromatice pot fi convertite în fenoli. Epoxidarea este o reacție a dublei legături cu formarea unui ciclului triatomic, foarte reactiv.



În transformarea benzenului (și în general a unui ciclu aromatic) în final se poate să apară benzen-epoxidul ca etapă intermediară.

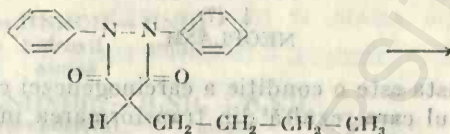


Epoxizii pot fi implicați ca metaboliți intermediari în carcinogeneza provocată prin hidrocarburi policiclice. Acțiunea lor s-ar exercita la nivelul macromoleculelor celulare, proteine și acizi nucleici.

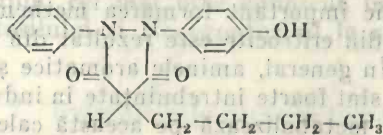
Hidroxilarea aromatică este o cale majoră pentru două medicamente importante, fenobarbital și fenilbutazona (antiinflamator).

Hidroxilarea mixtă aromatică și alifatică a lanțului lateral al fenilbutazonei produce doi metaboliți cu acțiuni diferite. Hidroxilarea ciclului benzenic generează metabolitul I, cu acțiunea antiinflamatoare iar hidroxilarea lanțului lateral, metabolitul III cu acțiune uricozurică :

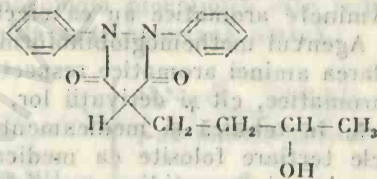
#### FENILBUTAZONĂ



#### METABOLIT I

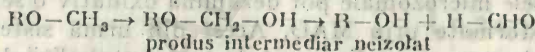


#### METABOLIT II



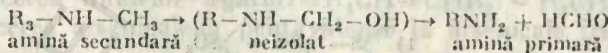
c) *O*-desalchilarea sau desalchilarea oxidativă (carbon hidroxilarea).

Acesta este mecanismul prin care se îndepărtează gruparea alchil din eteri, cu transformarea în alcooli sau fenoli și aldehide :



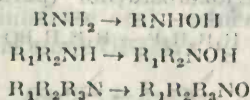
În cazul că R este radical aril, rezultă un fenol.

d) *N*-desalchilarea constă în scoaterea grupului alchil de pe aminele secundare sau terțiare, cu formare de amine — cu un substituent alchil mai puțin — și de aldehide. Aminele secundare devin astfel primare iar cele terțiare, secundare :



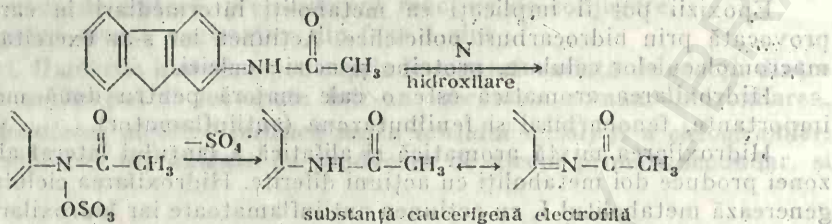
Prin acest mecanism se metabolizează analgeticele narcotice, imipramina, aminofenazona (piramidon), dimetilaminofenazona (din care se formează amino-4-antipirina), probenecidul, clorpromazina.

e) *N*-oxidarea este mecanismul prin care aminele primare și secundare sînt oxidate, cu producere de hidroxilamine iar cele terțiare sînt transformate în *N*-oxizi, conform ecuațiilor :





Hidroxilările pot fi toxice și în unele cazuri cancerigene ca în cazul N-hidroxi-2 acetamino-florenului (AAF). Agentul carcinogen este metabolitul electrolil (deficitar în electroni) ce rezultă din AAF prin N-hidroxilare, urmată de esterificare cu hidroxisulfat și apoi de pierderea sulfatului. S-ar părea că mecanismul este cel de mai jos :



Celule cu AAF (2-acetaminofluorene) legat de acizi nucleici, proteine

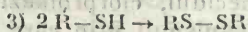
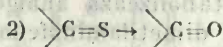
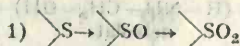
↓ (?)  
NEOPLASM

Se presupune că aceasta este o condiție a carcinogenezei chimice, ca substanța activă sau metabolitul care rezultă din transformarea microzomală să fie un reactant puternic electrolil.

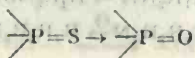
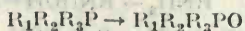
Aminele aromatice au ca efect toxic important formarea methemoglobinei. Agentul methemoglobinoformator din eritrocite este rezultat din N-hidroxilarea aminei aromatice respective. În general, aminele aromatice și cele nitroaromatice, cît și derivații lor, care sînt foarte întrebuițate în industria chimică, în tehnică și medicamente, se metabolizează pe această cale. Din aminele terțiare folosite ca medicamente, se metabolizează astfel dimetil-amfetamina și guanetidina, oxizii lor de N fiind eliminați ca metaboliți urinari.

f) *Dezaminarea oxidativă* are ca rezultat formarea de aldehide sau cetone și amoniac. Oxidazele microzomale pot dezamina oxidativ o serie de substanțe care nu sînt transformate prin MAO. Acest din urmă sistem dezaminează numai aminele endogene și medicamentele sau metaboliții lor, cu structuri asemănătoare cu acestea.

g) *Alte forme de oxidare.* Printre acestea se pot include : oxidarea atomilor de S (din sulfuri) și sulfoxizi și sulfinele respective, înlocuirea S cu O, oxidarea SH cu formare de legături disulfurice. Aceste reacții pot fi reprezentate astfel :



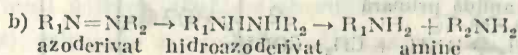
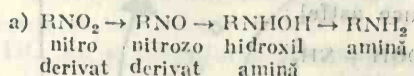
Reacții similare pot avea loc cu unii compuși fosforici, ca de pildă oxidarea fosfinelor și conversiunea triozofosfaților (paration) în fosfați :



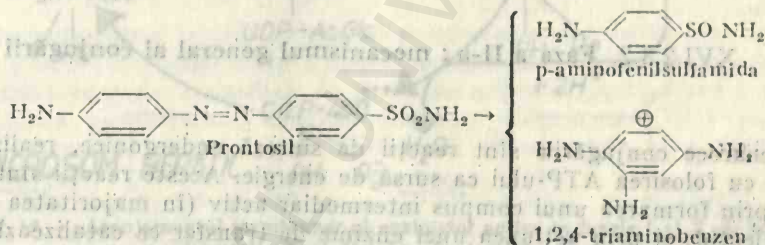
h) *Oxidarea alcoolilor.* La mamifere alcool-dehidrogenaza (NADH dependentă) — enzimă citosolică — catalizează oxidarea alcoolilor (etanol, butanol, ciclohexanol, alcool benzilic etc.). Sistemul oxidazic microzomal intervine atât în oxidarea alcoolului etilic cât și în oxidarea unor medicamente. Sistemul este denumit MEOS\*.

Medicamente inductoare ale OFMM ca fenobarbitalul determină și creșterea MEOS. O literatură bogată aduce date asupra interacțiunii dintre alcooli și diferite medicamente. In vivo 80% din alcool este oxidat prin aldehyd dehidrogenaza (ADH), iar 20% prin MEOS: administrarea cronică de alcool mărește activitatea MEOS. OFMM poate executa la diferite specii animale o serie de reacții diverse ca:  $\beta$ -oxidarea acizilor grași sau a altor compuși (ca acetofenona), dehidrogenări, transpoziții moleculare, demetilare etc.

*Reduceri.* Sint mai bine studiate reducerile microzomale ale nitro- și azoderivaților, compuși utilizați în industrie și ca medicamente. Reacțiile se petrec conform unor ecuații de tipul:

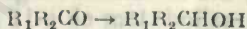


Exemplul cel mai bine cunoscut în farmacologia biochimică este reducerea Prontosilului și Neoprontozilul la sulfamida antibacteriană activă:



Scindarea reductivă a prontosilului roșu inactiv în sulfamidă activă.

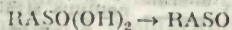
c) Reducerea cetonelor la alcooli secundari:



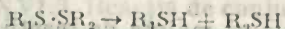
d) Reducerea aldehydelor la alcooli primari:  $\text{RCHO} \sim \text{RCH}_2\text{OH}$

e) Reducerea dublelor legături:  $\text{R}_1\text{CH}=\text{CHR}_2 \sim \text{R}_1\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{R}_2$

f) Reducerea arsenicalelor pentavalente la arsenicale trivalente:



g) Reducerea legăturii disulfidice la tioli:



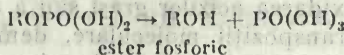
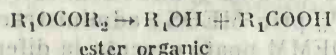
h) Reducerea N-oxizilor  $\text{>NO} \rightarrow \text{>N<}$

Pentru substanțele administrate oral, reducerile pot fi efectuate atât de flora intestinală, cât și prin sistemul OFMM.

\* MEOS = Sistemul microzomal de oxidare al alcoolului etilic ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ).

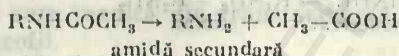
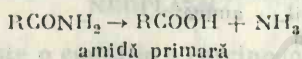


**Hidroliza.** Reacțiile privesc în special compușii de tip ester sau amidă. Numeroase medicamente ce conțin aceste legături sînt scindate prin enzime biochimice din plasmă și țesuturi, iar altele prin enzime „xenobiotice” din ficat. Ele privesc substanțe ca : alcoolii, fenoli, acizi carboxilici. La numeroase specii hidroliza are loc nu numai în ficat ci mai ales în plasmă care conține esterazele capabile să scindeze medicamentul. Pot avea loc următoarele tipuri de reacții :



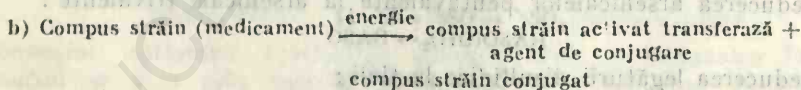
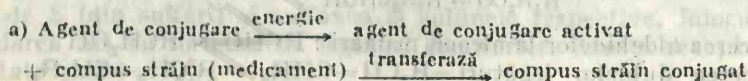
Hidroliza esterilor fosforici poate include bi- și triesteri, ca în cazul pesticidelor organo-fosforice.

Hidroliza anumitor amide, se produce astfel :



#### XVI.2.3.2. Faza a II-a : mecanismul general al conjugării

Deoarece conjugările sînt reacții de sinteză endergonice, realizarea lor se face cu folosirea ATP-ului ca sursă de energie. Aceste reacții sînt caracterizate prin formarea unui compus intermediar activ (în majoritatea cazurilor un nucleotid) și prin acțiunea unei enzime de transfer ce catalizează treapta finală, între intermediarul activ și produsul de conjugare. Ca urmare, există două feluri de reacții de conjugare, după cum este activat agentul de conjugare sau compusul străin :



La om sînt cunoscute opt tipuri majore de reacții de conjugare ce utilizează ca agenți conjuganți metaboliți ternari (hidrați de carbon, acid glucuronic, radical acetil), metaboliți azotați (aminoacizi ca : glicina, cisteina, glutamina și metionina), metaboliți sulfurici (sulfati, sulfuri). Spre deosebire de reacțiile fazei I, care nu sînt legate de specie, cele din faza a II-a sînt filogenetic diferite ; pe treptele evolutiv inferioare se folosește conjugarea cu oze și formarea de ozide, în timp ce omul și vertebratele superioare fac conjugările cu acid glucuronic. Conjugarea cu glicocol se folosește numai la om și animalele terestre

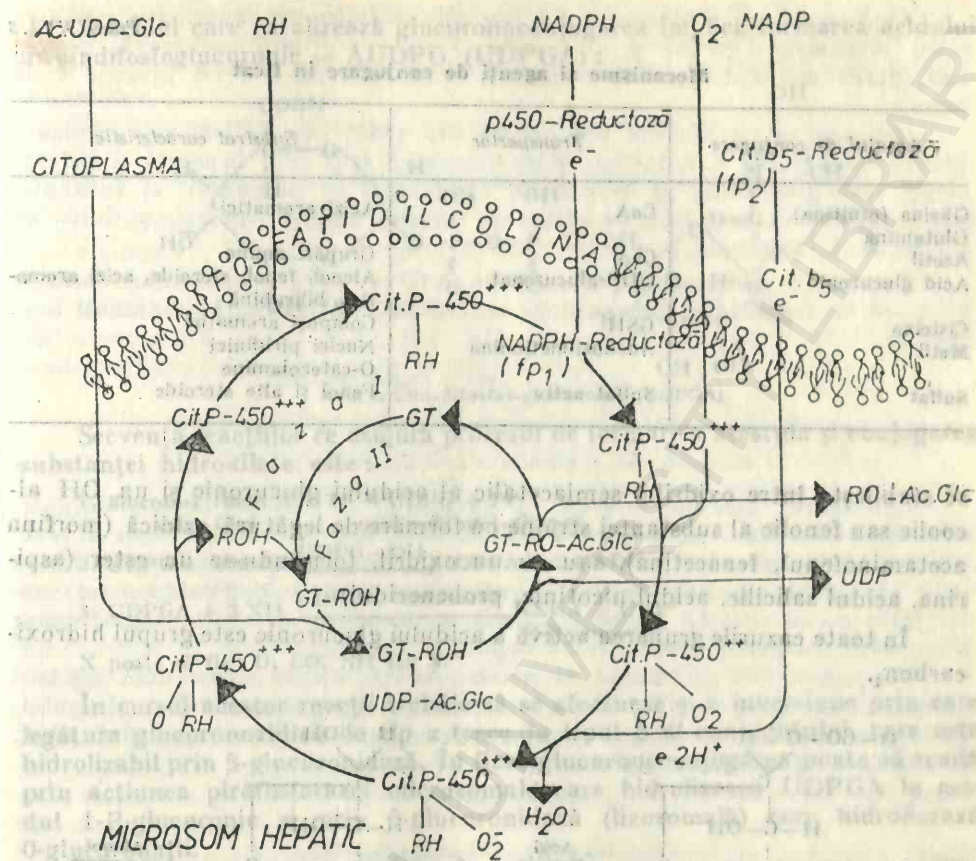


Fig. XVI.12 — Aranjamentul membranelor al enzimelor active în fazele I și II ale biotransformării, după Estabrook și colab.

iar glutamina intră în conjugare numai la om și cimpanzeu. Atât enzimele fazei I cit și acelea ale fazei a II-a de metabolizare sînt localizate în membrana microzomală, principală enzimă de conjugare (la om), glucuroniltransferaza fiind localizată pe fața internă a membranei microzomale. Aranjamentul lor în membrană este redat după Estabrook și colab. În fig. XVI.12. Rappaport prezintă un model de asamblare a enzimelor de detoxifiere din membrana microzomală hepatică, în concepția membranei ca mozaic mobil-Singer.

În faza a II-a mecanismul general al conjugării include conjugarea cu agenții indicați în tabelul XVI.3. Reacția de conjugare poate determina detoxifierea substanței străine fără sau cu pierderea activității biologice (hidrocortizon). În unele cazuri prin conjugare se realizează o bioactivare a medicamentului (6-mercaptapurina).

Glucurono-conjugarea reprezintă calea majoră de detoxifiere realizată în faza finală de transformare a metaboliților endo- și exogeni ca : bilirubina, hormonii (steroizi, tiroidieni), acizi organici cu lanț lung de atomi de carbon sau aromatici, fenolii, tiocompuși, amine primare, hidroxilamine etc. Legătura

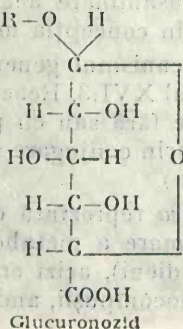
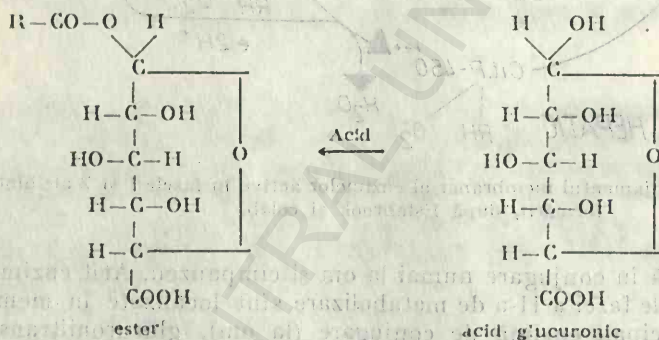


## Mecanisme și agenți de conjugare în ficat

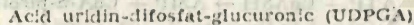
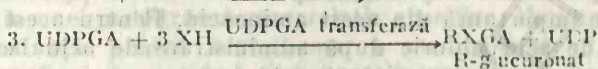
Agentul de conjugare	Transportor	Substrat caracteristic
Glicina (ornitina) Glutamina Acetil Acid glucuronic	CoA CoA UDP-glucuronat	Acizi aromatici — Grupări amino Alcool, fenol, steroide, acizi aromati- ci, bilirubină Compusi aromatici Nuclei piridinici O-catecolamine Fenol și alte steroide
Cisteina Metil	GSII Adenozilmelionina	
Sulfat	Sulfat activ	

se stabilește între oxidrilul semiacetalic al acidului glucuronic și un OH alcoolice sau fenolic al substanței străine cu formare de legătură ozidică (morfină, acetaminofenul, fenacetina), sau cu un oxidril, formându-se un ester (aspirina, acidul salicilic, acidul nicotinic, probenecidul).

În toate cazurile gruparea activă a acidului glucuronic este grupul hidroxi-carbonil.



OH

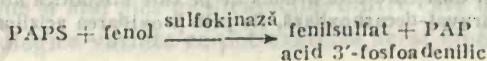

$$1. \text{glucozo-1, fosfat} + \text{UTP} \rightarrow \text{UDPG} + \text{PP}$$


În cursul acestor reacții trebuie să se efectueze și o inversiune prin care

Deoarece fenolii și sterolii formează glucuronații de tip eter, iar bili-

*Sulfoconjugarea* este o cale importantă de metabolizare a alcoolilor

ATP-sulfurază

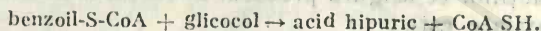
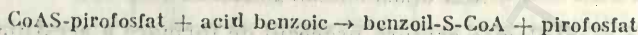




**Conjugarea cu aminoacizi.** La om sînt folosiți doi aminoacizi, pentru acest mecanism: glicina și glutamina. Cistina acetilată realizează, la om, conjugarea mercapturică într-o măsură mult mai mică decît primele două reacții.

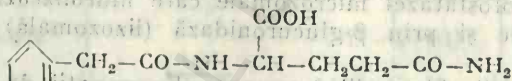
Conjugarea cu glicocol (cunoscută din 1842, W. Keller) este utilizată pentru conjugarea a numeroși acizi aromatici (tip acid benzoic) și heterociclici (acid nicotinic), a derivaților carboxilici ai tiofenului, ai furanului sau a acizilor cu lanț lung de atomi de carbon, nucleu aromatic și duble legături (acid cinamic).

Reacția se petrece în prezență de ATP și CoA, mecanismul desfășurîndu-se cu următoarea secvență de reacții în cazul conjugării acidului benzoic:



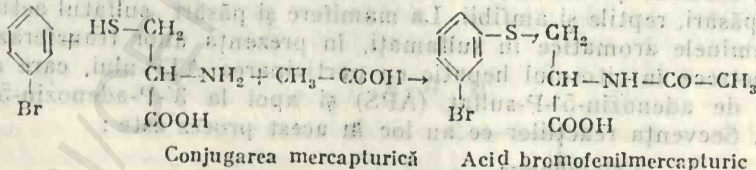
Conjugarea acidului benzoic cu glicocolul, cu formare de acid hipuric, se face în principal rinichi și accesoriu în ficat. Dar glicocolul folosit în reacție este de origine preponderent hepatică, hepatocitul avînd posibilitatea de a produce o cantitate importantă din acest aminoacid. Pentru acest motiv, eliminarea urinară de acid hipuric după administrare de acid benzoic a constituit o probă de explorare hepatică (Quick).

Conjugarea cu glutamină se petrece la om cu formarea unei legături amidice între grupul  $\text{NH}_2$  al aminoacizilor și grupul carboxil a drogului. Că tip de reacție poate fi luată conjugarea acidului fenil acetic cu glutamină, cu formare de fenil-acetilglutamină:



fenil acetilglutamină

Conjugarea mercapturică se referă la diferite hidrocarburi aromatice, monohalogenate, care se elimină în urină, combinate cu cistina, formînd un acid mercapturic. În urină normală există acizii mercapturici în cantitate mică (sulf neutru):

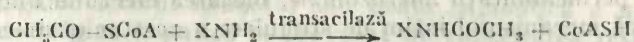


**Acilarea.** În forma cea mai comună, acilarea se realizează cu acidul acetic\*. Pentru acetilare sînt necesare enzimele denumite transacilaze, prezente în ficat. În desfășurarea procesului este nevoie de: piruvat-decarboxilaza

\* Agentul conjugat activ este acetil CoA care este produs fie pe cale glicolică anerobă, cu transformarea acidului piruvic prin piruvat-decarboxilază, fie prin  $\beta$ -oxidarea acizilor grași sau prin aminoacizi.

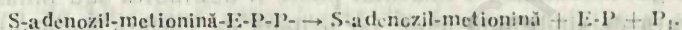
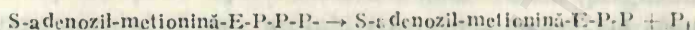
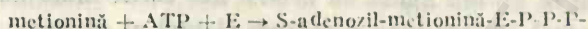
piruvică, pirofosfat de tiamină, acid lipoic, CoA, ioni de  $Mg^{++}$  și  $NAD^+$ . Mecanismul acetilării este folosit în conjugarea compușilor cu grupări  $NH_2$  și  $NH$ . Cele mai importante reacții de detoxifiere, pe această cale privesc sulfamidele.

Reacția generală de acilare poate fi reprezentată astfel:



în care X poate fi: radical alifatic, un inel aromatic, radical provenind din  $\alpha$ -aminoacizi, hidrazine și hidrazide ( $RNHNH_2$  și  $RCONHNH_2$ ), o grupare sulfonamidică ( $SO_2-NH_2$ ).

Metilarea se produce cu substanțe care conțin sau cîștigă în faza I a biotransformării, grupări OH, SH,  $NH_2$ . Forma de activare a metilului este S-adenozil-metionina, secvența reacțiilor fiind:



În acest sistem de reacții E este o enzimă din citosol. Transferul grupării metil de pe S-adenozilmetionină pe substanța receptoare se face prin intervenția unei metiltransferaze, relativ specifice. Metilarea este o cale de mai mică importanță pentru transformarea medicamentelor. Intervine în trecerea normorfinei în morfină (prin metil transferaze hepatice nespecifice). Este importantă pentru compușii endogeni (acid nicotinic, noradrenalină).

Formarea tiocianatului (sulfocianură) este o cale de transformare a acidului cianhidric, nitrililor și carbilaminelor alifatică prin acțiunea rodanazei hepatice (în prezența sulfului coloidal sau a unui tiosulfat organic). În mod normal se găsește în salivă sulfocianat de amoniu și în urină mici cantități de sulfocianat alcalin.

În cazul detoxifierii diferitelor medicamente trebuie subliniat faptul de importanță capitală pentru chimioterapie, că biotransformarea acestor substanțe este „adaptabilă“.

### XVI.2.3.3. Inducția enzimatică microzomală

Nivelul de metabolizare a medicamentelor poate fi scăzut sau inhibat complet printr-o serie de compuși ce pot acționa direct asupra OFMM sau extra OFMM hepatic. Activitatea unor medicamente poate fi prelungită sau crescută prin administrarea simultană a altor compuși (fie el alt medicament), care funcționează ca „potențiator“ sau prin mărirea sensibilității receptorilor celulari față de primul medicament. Foarte important este de asemenea fenomenul de „inducție enzimatică microzomală“, prin factori alimentari, substanțe străine și mai ales medicamente dintre care unele au structuri și activități farmacologice variate ce pot exercita acest efect. Cele mai studiate medicamente



capabile să producă inducție enzimatică microzomală sînt barbituricele în special fenobarbitalul. Tratamentul cu fenobarbital, ca inductor al glucuronil transferazei se aplică în icterul provocat prin deficiența acestei enzime. În mecanismul de producere a efectului de inducție este implicată creșterea nivelului citocromului P-450, a enzimelor de detoxifiere în procesul de activare directă a permeabilității microzomale, blocarea efectului unor inhibitori. Se presupune că mecanismul intim de stimulare a acestor enzime are la bază de fapt, creșterea biosintezei enzim-proteinelor, implicate în metabolizarea medicamentelor.

## XVI.24. PATOLOGIA BIOCHIMICĂ A FICATULUI

Patologia biochimică a ficatului poate fi dobîndită sau innăscută. Prima este centrată de sindromul icter, iar a doua de variate deficiențe enzimatice care au fost prezentate în capitolele de metabolism.

Icterul (gălbănarea) este sindromul care se produce prin creșterea concentrației bilirubinei serice peste 2 mg %, nivel la care pigmentul trece în țesuturi. Icterul este expresia fie a unei producții crescute de pigmenți biliari care depășește capacitatea de excreție a ficatului sănătos, fie a unei leziuni hepatocelulare (toxică sau infecțioasă), fie a unui obstacol (intra-sau extrahepatic) în curgerea bilei. Prin obstacol extrahepatic se realizează icterul posthepatic. În tabelul XVI. 4 este redată o clasificare patogenetică a tipurilor de icter (1970).

Tabel XVI.4

Clasificarea patogenetică a tipurilor de icter

Tipul de icter	Bilirubină serică	Sindrom sau boală
Prehepatic	Neconjugată (indirectă)	Stări hemolitice Icterul noului născut
→premicrozomal	Neconjugată (indirectă)	Sindrom Gilbert Crigler-Najjar
Hepatic-hepatocelular	Conjugată (directă)	Hepatită, ciroză
→postmicrozomal	Conjugată (directă)	Sindrom Dubin Jonhson, Rotor, medicamente
↑ Colestază		
Posthepatică	Conjugată (directă)	Ciroză biliară, litiază biliară, Cancer cap de pancreas etc.

(după Noel F. Mac Lagan)

Se subliniază dificultatea de încadrare a colestazei, în clasificare. Schimbările biochimice se aseamănă cu cele ale icterului posthepatic, dar fosfataza alcalină serică nu este prea ridicată. În cele ce urmează se mai fac unele preci-

zări în legătură cu acest tabel. Icterul hepatocelular poate fi de cauză infecțioasă virală (antigenul HBs) sau de cauză toxică. Sindromul Gilbert sau hiperbilirubinemia familială (icterul juvenil, intermitent al lui Meulengracht) se pare că se produce printr-un deficit al proteinei transportoare ce determină deficitul de prelucrare a bilirubinei indirecte de către hepatocit, ea rămânând astfel neconjugată. Icterul neonatal sau boala hemolitică a noilor născuți, este parțial de origine hepatică și provocat de capacitatea restrinsă a ficatului de a excreta bilirubina în bilă.

Sindromul Crigler-Najjar este provocat de absența congenitală a UDP-glucuronil-transferazei. Sindroamele icterice Dubin-Johnson (cu o depozitare de pigment închis la culoare, în ficat) și Rotor (fără depozitare de pigment în ficat) par datorate unui deficit al mecanismului de transport în interiorul hepatocitelor. Sindromul Arias sau icterul de lungă durată al noilor născuți, a fost corelat cu prezența în laptele matern a unui steroid (pregnandiol) care s-a dovedit experimental că este un inhibitor al conjugării bilirubinei.

Acumularea de bilirubină neconjugată (în incompatibilitatea de factor RH) are efecte importante asupra procesului care conduce la icterul nuclear.

În general, s-ar părea că bilirubina indirectă este toxică și conjugarea sa în ficat corespunde unui veritabil proces de detoxifiere.

Principalele boli determinate prin deficite enzimatice înăscute au fost descrise în capitolele respective de metabolism. Din tulburările metabolice înăscute ale aminoacizilor se menționează aici, aminoaciduria din cadrul unui sindrom cu deosebită importanță clinică. Este vorba de degenerescența hepato-lenticulară sau boala lui Wilson, determinată cu multă probabilitate de un deficit de biosinteză a ceruloplasminei (fig. XVI. 13). Această oxidază (fero sau cupro-oxidază) are un nivel foarte scăzut în boala menționată. Leziunea biochimică are consecințe metabolice și clinice cunoscute: leziuni cerebrale (lenticulare), leziuni corneene, leziuni renale, aminoacidurie, fosfaturie, depozitare de cupru în țesuturi.

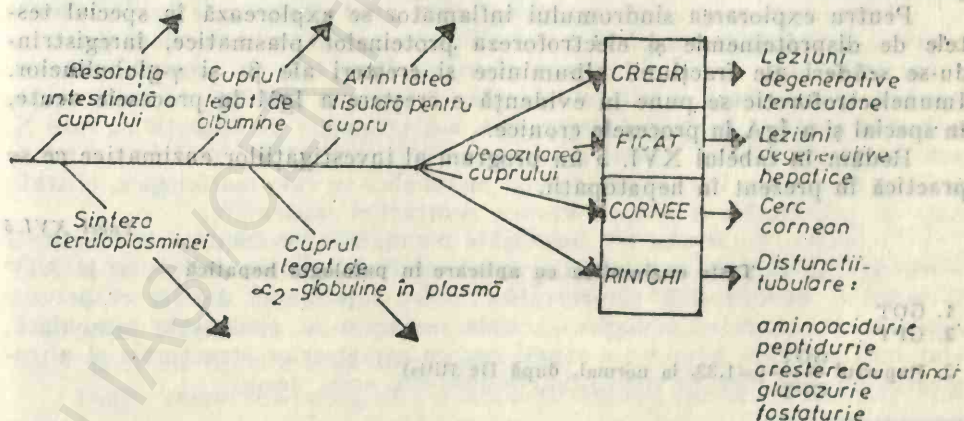


Fig XVI.13 — Corelații metabolice și sindromul clinic din degenerescența hepato-lenticulară.



## XVI.2.5. EXPLORĂRI FUNCȚIONALE HEPATICE SISTEMATIZATE

Sistematizarea explorărilor hepatice are la bază existența celor patru sindroame întâlnite în patologia hepatică: excreto-biliar, hepato-priv (sau de insuficiență celulară), de citoliză și cel inflamator.

Pentru explorarea sindromului excreto-biliar se determină în sânge bilirubina totală, directă și indirectă, raportul dintre cele două forme dând indicații asupra patogeniei icterului (vezi tabel), prehepatic, hepatic (leziune hepatocelulară infecțioasă sau toxică), prin deficit de conjugare a bilirubinei principalele posibilități de reacție fiind sintetizate în tabelul XIV. 4.

Prin sindromul hepato-priv sînt investigate proteinemia totală, albumina serică, factorii de coagulare, colesterolul liber total și esterificat (mai puțin intrat în practica obișnuită). Dintre diferitele probe de conjugare (ex. proba Quick cu acid benzoic) și de clearance (BSP., Rose-Bengale), astăzi investigațiile se execută numai cu proba BSP (bromsulfonfaleină).

Pentru investigarea sindromului de citoliză se determină: sideremia, cupremia și enzimele plasmatice cu valoare diagnostică. Dintre acestea din urmă sînt socotite organospecifice: SDH, OCT, arginaza, fructozo-1-fosfat-aldolaza și guanaza (după experiența mai restrînsă și mai recentă a unor autori), GLDH (indicatori de leziune mitocondrială hepatică) și izoenzima LDH-5, folosită atît în diagnostic, cît și ca indicator de severitate a leziunilor. La acestea se adaugă enzimele caracteristice leziunii hepatice: GPT, GOT cu raportul

$$\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}} \text{ și raportul } \frac{\text{GOT} + \text{GPT}}{\text{GLDH}} \text{ (raport Schmidt)}$$

Pentru explorarea sindromului excreto-biliar alături de determinările de bilirubină și urobilinogen se explorează enzimele care exprimă componenta obstructivă: fosfataza alcalină (cu izoenzimele sale), LAP, 5'-nucleotidaza și gama GT (ambele foarte utile) deoarece nu înregistrează creșteri de origine osoasă\*.

Pentru explorarea sindromului inflamator se explorează în special testele de disproteinemie și electroforeza proteinelor plasmatice, înregistrîndu-se scăderi ale fracțiunii albuminice și creșteri ale  $\beta$ - și  $\gamma$ -globulinelor. Imunelectroforetic se pune în evidență o creștere a IgM în procesele acute, în special și a IgA în procesele cronice.

Redăm în tabelul XVI. 5 un program al investigațiilor enzimaticе ce se practică în prezent în hepatopatii.

Tabel XVI.5

### Teste enzimaticе cu aplicare în patologia hepatică

1. GOT
2. GPT

3. Raportul  $\frac{\text{GOT}}{\text{GPT}}$  (=1,33, la normal, după De Ritis)

\* Valoare diagnostică asemănătoare are și dozarea de AAP = alaninamin opeptidaza (Hasehen).

4. Fosfataza alcalină (eventual cu izoenzimele sale caracterizate prin inhibiție diferențială, termică sau chimică).
5. LDH totală (eventual cu zimograma și calculul raportului H/M = 1—3 în serul normal).
6. LDH<sub>3</sub> (prin profilare izoenzimatică obținută prin : inhibiție diferențială termică sau chimică sau prin absorbție selectivă pe DEAE celuloză).
7. Pseudocolinesteraza
8. OCT (Ornitincarbamil-transferaza)
9. Fructozo-1-fosfaldolaza (eventual cu raportul fructozo-1-6-difosfat-aldolaza/5-fructozo-1-fosfat-aldolaza-12, în serul normal).
10. Sorbitol-dehidrogenaza
11. Guanaza
12. GLDH (glutamatdehidrogenaza)
13. Raportul  $\frac{\text{GOT} + \text{GTP}}{\text{GLDH}}$   $\begin{cases} 5-15, \text{ în icterul obstructiv} \\ 30-50, \text{ în hepatopatii cronice} \\ 50, \text{ în hepatita acută} \end{cases}$
14. LAP (leucinaminopeptidaza)
15.  $\gamma$ -GT ( $\gamma$ -glutamyltranspeptidaza)
16. 5'-nucleotidaza

Se precizează că investigațiile enzimatiche indicate în pozițiile :

- de la 1—4 reprezintă programul minimal, curent aplicat ;
- de la 5—13 program superior, deschis progresului tehnico-metodologic ;
- de la 14—16 program necesar precizării diagnosticului de icter obstructiv.

Explorarea directă a ficatului se face prin puncție-biopsie, din ce în ce mai practică, și prin gamascintigrafie cu determinarea clearance-ului colorantului Rose-Bengale (tetracloro-tetraiodo-fluoresceină marcată cu  $^{131}\text{I}$ ). Puncția biopsie poate asocia explorarea morfologică cu cea biochimică dacă se folosesc ultramicrometode cantitative.



## Cap. XVII. BIOCHIMIA ȚESUTULUI MUSCULAR

Muschiul este un transformator energetic chemo-mecanic, țesut al conversiunii energiei acumulate în ATP, în energia mecanică a contractilității și motilității. Ca esență funcțională, el face parte din categoria de formațiuni biologice, apărute prin diferențiere celulară evolutivă, specializate în contractilitate\*, proprietate generală a protoplasmei originale. Filamentele contractile sînt microtubuli, alcătuiți principal din proteine denumite tubuline, prezenți în majoritatea celulelor eucariotice participînd la toate activitățile ce implică tensiune mecanică, torsiune sau translocatie. Prin aceste formațiuni se asigură activitatea propulsivă a cililor și flagelilor și tot ele intervin în organizarea conținutului celular, formarea „fusului“ în diviziunea celulară, deplasarea cromozomilor, a organelor și a particulelor, în transportul materialelor intracelulare (pigmenți ca melanina în melanocite) etc. La vertebrate contractilitatea rămîne apanajul celulelor musculare (miocite), însușire care subordonează toate celelalte trăsături funcționale.

Pentru organismul întreg și pentru membrele sale, musculatura joacă un rol esențial în menținerea posturii, stabilitate și mers, ca și în respirație, circulația singelui prin arborele vascular, mișcările tractului digestiv etc.

Mecanismul contracției musculare este unul dintre cele mai evidente exemple de integrare complexă a unităților de organizare moleculară și a celor supramoleculare, celule și ultrastructuri celulare, într-un impresionant ansamblu de structură morfo-funcțională. Integrarea datelor de microscopie optică în contrast de fază și electronică, a diagramelor de difracție cu raze X, sub diferite incidențe, înainte și după extracția selectivă a proteinelor miofibrilare, au condus la cuplarea datelor metabolice cu cele morfologice, cristalizate în principalele concepții asupra contracției musculare.

În pofida numeroaselor cunoștințe acumulate, problema fundamentală a biologiei mușchiului, modul în care se face transferul de energie de la ATP la miozină, rămîne încă nerezolvată. Pentru înțelegerea datelor ce privesc cuplarea fenomenelor biologice cu cele mecanice în contracția musculară, sînt încă necesare numeroase studii asupra caracterelor structurale și ultrastructurale ale unității morfo-funcționale din acest țesut.

\* Contractilitate = schimbare activă a formei unui element producîndu-se sub influența unei excitații adecvate. Celulele vii posedă diferite grade de contractilitate.

## XVII.1. CLASIFICAREA MUȘCHILOR. TIPURI MORFOFUNCȚIONALE

Celulele sau fibrele musculare se asociază în grăpuri de aceeași natură, îmbinându-se cu elemente conjunctive, vasculare, nervoase. Ele alcătuiesc astfel : organe individualizate — mușchii scheletici, sau participă la conformația diferitelor organe — musculatura netedă viscerală. Se cunosc trei categorii de țesut muscular, fiecare avind caractere morfologice, funcționale și origine embrionară diferite (epitelială sau mezenchimatoasă).

### XVII.1.1. MUȘCHII STRIAȚI SAU SCHELETICI

Sînt mușchii ale căror fibre se contractă voluntar, scurt și rapid. Aceștia se subîmpart în mușchi roșii și mușchi albi, după preponderența fibrelor roșii, bogate în mioglobină și în reticulul sacro-plasmatic, posedind un aparat mitocondrial puternic și o intensă activitate oxidativă pe calea ciclului Krebs. Fibrele albe au rezerve mici de mioglobină, fascicule miofibrilare strînse și abundente, număr redus de mitocondrii, în schimb au enzime glicolitice active precum și mult glicogen.

### XVII.1.2. MUȘCHII NETEZI

Mușchii netezi sau viscerali, ale căror fibre se contractă involuntar, lent și susținut.

### XVII.1.3. MUȘCHIUL CARDIAC (MIOCARDUL)

Acesta deși are origine mezenchimatoasă este de tip striat. În timp ce fibrele mușchilor striati (ai vieții de relație) sînt lungi și independente unele de altele, fibrele miocardului sînt ramificate și anastomozate într-o rețea sincițială. Vitezele de concentrație și relaxare ale fibrelor miocardice sînt mai mici decît ale fibrelor musculare roșii.

Dintre aceste trei categorii, cei mai bine studiați sînt mușchii striati (scheletici) și ca urmare, majoritatea noțiunilor ce alcătuiesc biochimia mușchilor se referă la acest tip de celulă musculară.



## XVII.2. ORGANIZAREA ULTRASTRUCTURALĂ A MUȘCHIULUI SCHELETIC

### XVII.2.1. FIBRA MUSCULARĂ

Mușchiul striat este alcătuit din fibre musculare lungi de 1—4 mm cu diametrul de 10—100 mm. Miocitul sau fibra musculară este o celulă multi-nucleată, al cărei volum este ocupat în majoritate de miofibrile, asamblate în „colonite” fine (colonitele lui Leydig), înconjurate și separate între ele prin sarcoplasmă, fluid viscos ce poate avea consistența unui gel și care conține constituenții solubili ai celulei. Miofibrilele sînt alcătuite din filamente groase și subțiri. Membrana plasmatică este cunoscută ca sarcolemă, ce prezintă din loc în loc invaginații, vezicule și alveole, implicate probabil în micro-pinocitoza și transportul materialelor către exteriorul fibrei. Sarcolema este asociată cu o componentă extracelulară de cca 500 Å, considerată ca „membrana bazală”. Organitele celulare (nuclei, mitocondrii) sînt dispuse către periferie. Mitocondriile (sarcozomii Retzius, 1890) variază ca număr și așezare cu felul mușchiului. În mușchii foarte activi, roși, mitocondriile sînt numeroase și așezate de-a lungul miofibrilelor, iar în mușchii mai puțin activi, ele sînt mai rare și distribuite mai neregulat.

### XVII.2.2. SISTEMUL DE MEMBRANE INTERNE

Fibra musculară este asociată cu un sistem de membrane interne compus din două formațiuni de bază: reticulul sarcoplasmatic și sistemul tubular, transversal „T”. Reticulul sarcoplasmatic este omologul reticulului endoplasmatic din celelalte celule, iar sistemul „T” este o formație derivată din sarcolemă. El este alcătuit din tubuli orientați longitudinal sau transversal, în profunzimea fibrelor. Sistemul de tubuli, are o distribuție regulată, pe direcția longitudinală a fibrei. Între reticulul sarcoplasmatic și sistemul „T” legătura se face prin „triadele” descrise de Porter și Palade în 1957 și „diadele” puse în evidență de Smith (1961 și Hoyle (1965)). Atît triadele cît și diadele sînt alcătuite dintr-un element sarcolemic (tubulul), în comunicare cu formațiuni de saci, derivate din cisternele reticulului sarcoplasmatic (fig. XVII.1). Din sistemul „T” sînt derivate și veziculele care alcătuiesc așa numitul „factor de relaxare” și a cărui inhibiție se consideră că ar activa contracția. Sistemul membranar intern s-ar părea că joacă un rol în dirijarea excitației de la suprafața membranei (sarcolema) spre interiorul fibrei, unda de depolarizare fiind răspîndită prin intermediul elementelor triadei, distribuite transversal în fibră.

Depolarizarea elementului central al triadei (din sistemul „T”) ar declanșa eliberarea de ioni  $\text{Ca}^{++}$  —localizați în sacii laterali ai sistemului „T”— activatori ai miozin-ATP-azei care scindează ATP-ul generator de energie pentru contracția musculară.

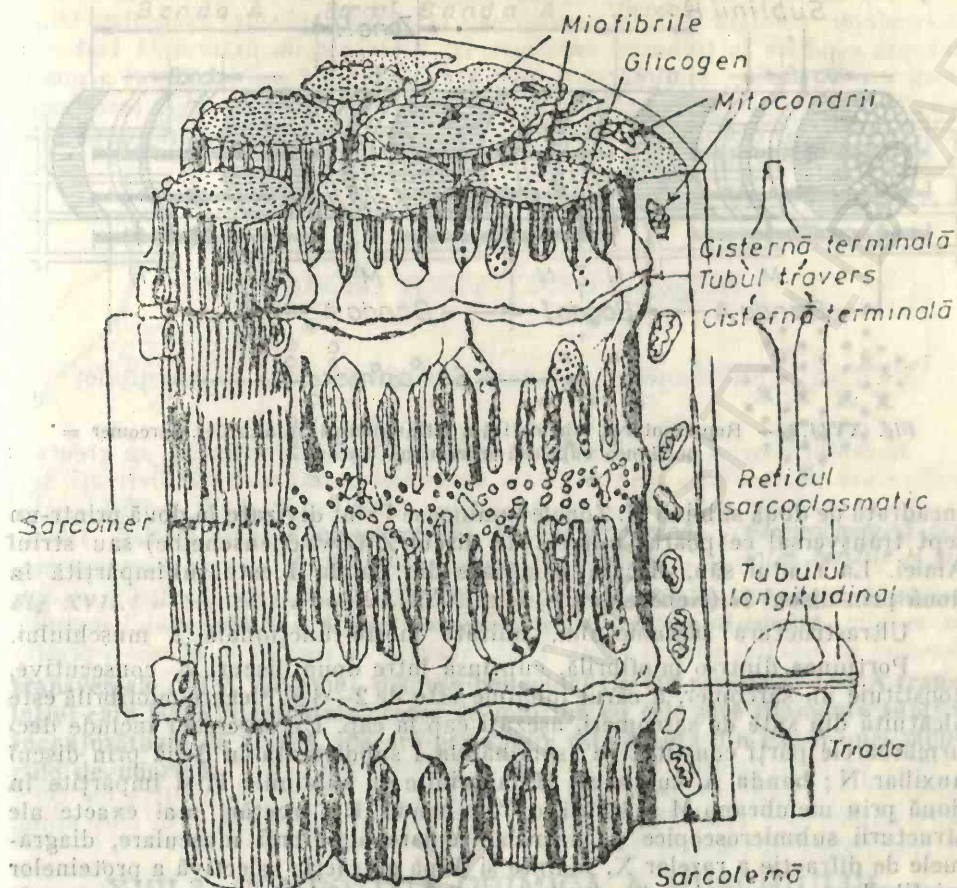


Fig. XVII.1 — Sistemul de tubuli transversali și reticulul sarcoplasmatic din mușchi (adaptare după Petrides E. și Löffler S.).

### XVII.2.3. ULTRASTRUCTURA MIOFIBRILEI

Miofibrilele sînt structuri care posedă o periodicitate a elementelor constitutive cu pasul de cca 2,5  $\mu$ . Datele microscopice au arătat de-a lungul miofibrilei o alternanță de zone sau benzi transversale luminoase, cu zone întunecate, cu indice de refracție diferit. Acestea sînt benzile A (anizotrope), întunecate în lumina naturală și luminoase în lumina polarizată, alternate cu benzile I (izotrope), luminoase în lumina naturală și întunecate în lumina polarizată. Poziția celor două feluri de benzi este diferită, după cum mușchiul este în contracție sau relaxare. Zonele întunecate A prezintă în partea mijlocie o bandă transversală, zona H (sau atriul Hansen) care la rîndul său este centrată de o linie transversală fină, membrana sau discul M (Mittelscheibe),



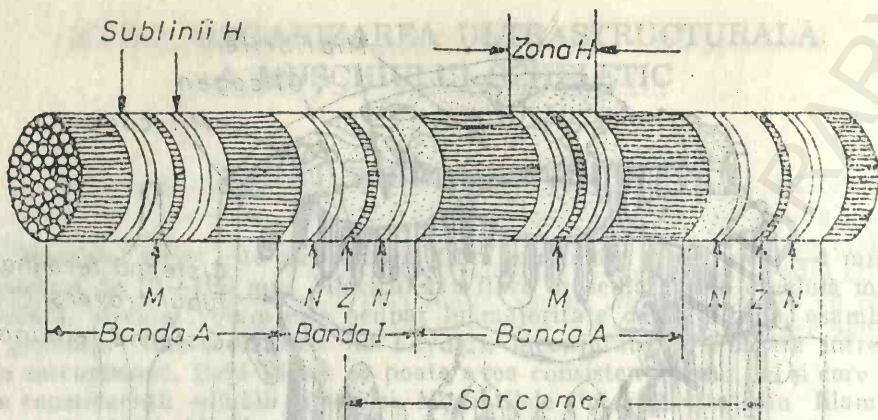


Fig. XVII.2 — Reprezentarea schematică a ultrastructurii miofibrilei. Sarcomer = porțiunea cuprinsă între două discuri Z.

încadrată de două sublinii H. Zonele luminoase I sînt divizate în două printr-un sept transversal ce poartă numele de discul Z (Zwischenscheibe) sau striul Amici. La rîndul său, fiecare jumătate din banda I este subîmpărțită în două prin discul N (Nebenscheibe) (fig. XVII. 2).

Ultrastructura sarcomerului, unitate morfo-funcțională a mușchiului.

Porțiunea dintr-o miofibrilă, cuprinsă între două discuri Z, consecutive, constituie un sarcomer, a cărui lungime este de 2—3  $\mu$ . Fiecare miofibrilă este alcătuită din sute de sarcomeri, așezați cap la cap. Un sarcomer include deci următoarele părți constitutive: semibanda I subdivizată în două prin discul auxiliar N; banda A, cu zonele H mărginite cu subliniile H și împărțite în două prin membrana M și iarăși o semibandă I. Cercetări mai exacte ale structurii submicroscopice și macromoleculare ale fibrei musculare, diagramele de difracție a razelor X, înainte și după extracția selectivă a proteinelor miofibrilare, au condus la corelarea datelor morfologice prezentate cu cele din biochimia proteinelor contractile și reglatoare. În acest sens se pot da cîteva precizări. Din striurile Z ies de ambele părți filamente subțiri de actină, îndreptate către mijlocul sarcomerului, lăsînd (în stare de relaxare) un spațiu liber în mijloc. În zona centrală a sarcomerului — banda A — se găsesc filamente groase de miozină care prezintă în mijloc o îngroșare, membrana M. Filamentele fine, vizibile pe toată lungimea benzilor luminoase I și care pătrund în banda A, intrînd în zona H dar fără să atingă membrana N, sînt formate din actină. Există deci zone de suprapunere ale celor două tipuri de filamente. Pe secțiunile transversale de sarcomer, în funcție de nivelul la care se face secționarea, se observă fie numai filamente de miozină sau de actină, fie ambele. Cînd secțiunea prinde cele două feluri de filamente, ies în evidență elemente de simetrie de ordinul 3 sau 6. Fiecare filament de miozină se găsește în centrul unui hexagon ale cărui vîrfuri sînt ocupate printr-un filament de actină; fiecare filament de actină se găsește în centrul unui triunghi ale cărui vîrfuri sînt reprezentate de miozină (fig. XVII, 3). Filamentele groase din benzile A, de aproximativ 1500 Å fiecare, constau din fascicule de molecule de miozină, rînduite paralel cu axul longitudinal al fibrei. Moleculele de miozină posedă pe întreaga lor lungime unele prelungiri sub formă de punți

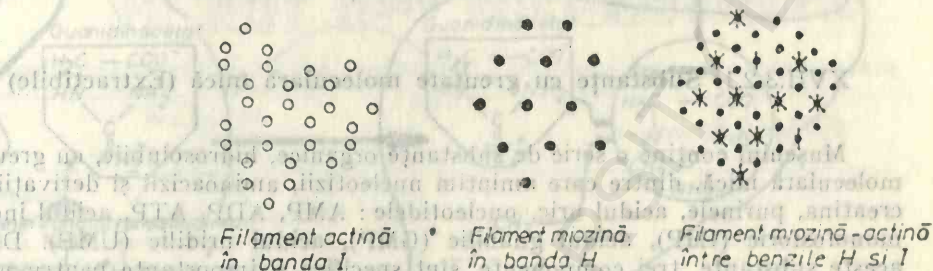
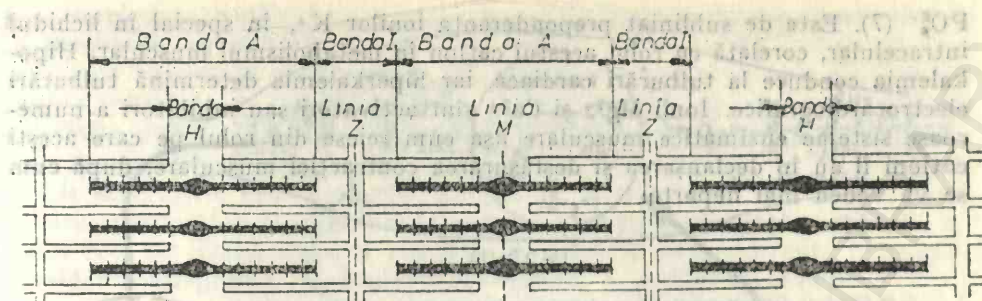


Fig. XVII.3 — Secțiuni transversale prin diferitele zone ale sarcomerului: relațiile de simetrie de ordin 3 și 6, între filamentele de actină și cele de miozină.

transversale (90° A lungime), dispuse helicoidal (la 60° rotație și 143 Å translație) care leagă filamentele groase de miozină cu cele șase filamente subțiri, înconjurătoare de actină. Fiecare prelungire este făcută din capul unei molecule de miozină.

### XVII.3. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A MUȘCHIULUI

În compoziția mușchiului se pot deosebi:

- constituienți comuni cu celelalte țesuturi (de ex. proteine, enzime);
- constituienți specifici mușchiului, indispensabili funcției sale (fosfagen, proteine contractile, proteine reglatorii);
- constituienți comuni cu celelalte țesuturi dar cu distribuție specifică funcției mușchiului (creatină, electroliți, ATP, glicogen).

Este de subliniat aspectul caracteristic mușchiului, acela că aproape 50% din proteinele structurale au o activitate enzimatică, miozin-ATP-azică, fapt care face din enzime unități structurale și funcționale ale celulei.

#### XVII.3.1. CONSTITUENȚI MINERALI

Tesutul muscular care reprezintă cca 40% din greutatea corporală conține 75—80% apă. Compoziția electrolitică (în mg %) este următoarea:  $\text{K}^+$  (320—400),  $\text{Ca}^{2+}$  (8),  $\text{Na}^+$  (80),  $\text{Mg}^{2+}$  (21),  $\text{Cl}^-$  (70),  $\text{SO}_4^{2-}$  (urme),  $\text{HCO}_3^-$  (15),



$\text{PO}_4^{3-}$  (7). Este de subliniat preponderența ionilor  $\text{K}^+$ , în special în lichidul intracelular, corelată cu rolul acestui cation în metabolismul muscular. Hipokalemia conduce la tulburări cardiace, iar hiperkalemia determină tulburări electrocardiografice. Ionii  $\text{Mg}^{2+}$  și  $\text{Ca}^{2+}$  sînt activatori sau inhibitori a numeroase sisteme enzimatice musculare așa cum reiese din rolul pe care acești cationi îl au în declanșarea și desfășurarea contracției musculare; după cum se va vedea mai departe.

### XVII.3.2. CONSTITUENȚI ORGANICI

#### XVII.3.2.1. Substanțe cu greutate moleculară mică (Extractibile)

Mușchiul conține o serie de substanțe organice, hidrosolubile, cu greutate moleculară mică, dintre care amintim nucleotizii, aminoacizii și derivații lor, creatina, purinele, acidul uric, nucleotidele : AMP, ADP, ATP, acidul inozin-monofosforic (IMP), acidul guanilic (GMP), acidul uridilic (UMP). Dintre aceste substanțe, trei componente sînt specifice și importante pentru metabolismul funcțional al mușchiului : a) ATP prezent în toate țesuturile, atinge în mușchi un nivel foarte ridicat, cea 5 milimoli/kg, indispensabil metabolismului și funcției acestui țesut. Este localizat în special în banda I, printre filamentele de actină. Rolul său va fi prezentat ulterior. (b) Creatina este o componentă esențială, a cărei concentrație reprezintă peste 1/2 din azotul neproteic al mușchiului, ridicîndu-se la 20 milimoli/kg. Preponderent se găsește ca fosfocreatină (fosfagen), care împreună cu ATP reprezintă rezervorul de compuși macroergici ai mușchiului. Concentrațiile relative ale celor doi compuși sînt variabile, în funcție de tipul morfo-funcțional al mușchiului și sînt redate în tabelul XVII. 1.

Tabel XVII. 1  
Concentrațiile relative ale ATP și creatinfosfatului în diferite tipuri de mușchi

Tipul mușchiului	ATP mmoli/kg țesut	Creatinfosfat mmoli/kg țesut
Scheletic	5	20
Neted	2	0,7
Miocard	1,5	2

Se remarcă valorile ridicate ale concentrațiilor celor două substanțe și mai ales a fosfagenului, la nivelul musculaturii de activitate voluntară și rapidă. Dacă sinteza de ATP se petrece în toate țesuturile prin fosforilare oxidativă, biosinteza creatinei se petrece numai în ficat și în rinichi, de unde este preluată apoi de mușchi, prin circulația generală. Cele două trepte ale sintezei sînt : formarea guanidinacetatului, ce se realizează prin transferul grupului amidinic din arginină la glicină, sub acțiunea arginin-glicintransaminazei, urmată de metilarea guanidinacetatului prin metionina activată,





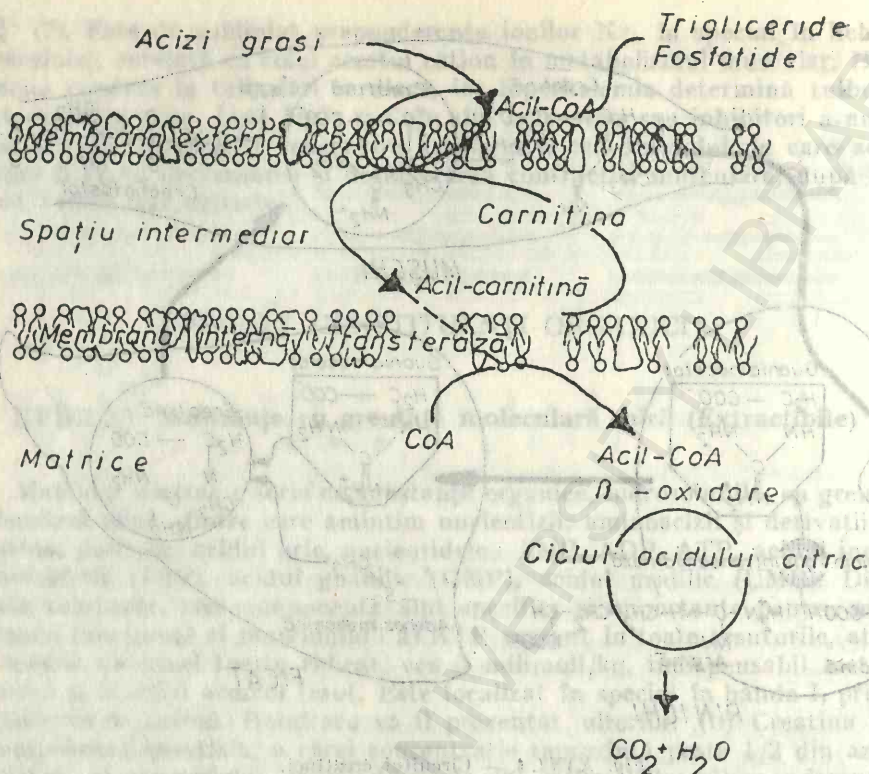


Fig. XVII.5 — Carnitina și rolul său în transferul legăturilor acil-CoA prin membranele mitocondriale.

### XVII.3.2.2. Substanțe cu greutate moleculară mare neazotate

Lipidele musculaturii aparțin preponderent fosfatidelor, ce reprezintă componente ale mitocondriilor și membranelor celulare.

Glicogenul este prezent în concentrații variabile de la 0,5—1g%, putând oscila însă între 0,2—4 g%. Cantitatea de glicogen muscular este aceeași în cea hepatică (deși concentrația musculară este mică), dacă se are în vedere masa considerabilă pe care o reprezintă musculatura din greutatea totală a organismului. Datorită intensității de utilizare a glicogenului în mușchi, sint prezenți în acest țesut intermediarii glicolizei și ai ciclului acidului citric. Dintre aceștia, preponderent sint : glucozo-6-fosfatul, acidul 3-fosfoglicerice și acidul lactic.

### XVIII.3.2.3. Proteinele

Fixînd drept criteriu de clasificare, localizarea proteinelor în țesutul muscular ele se pot grupa în patru categorii : (a) proteinele sarcoplasmice, b) proteinele granulare sau ale organelor celulare, nucleii, mitocondrii sau

sareosomi, de o deosebită importanță în metabolismul energetic al mușchiului, c) proteinele miofibrilare, funcționale, structurale (miozina, actina) și cele reglatorii (tropomiozina și complexul troponin); d) proteinele stromei, ce conțin substanțe de natură colagenă. Aceste proteine rămân după extracția celorlalte grupări de proteine. Printre acestea se întâlnește și mioglobina.

Proteinele sarcoplasmice. Miogenul reprezintă 28—30% din proteinele totale musculare, ușor extractibile. Conține în majoritate enzime glicolitice a căror participare procentuală la compoziția miogenului este redată în tabelul XVII.2 (După Czak și Bucher). Se remarcă preponderența 3-fosfogliceraldehidhidrogenazei, a enolazei și fructozo-1, 6-difosfataldolazei.

Tabelul XVII.2

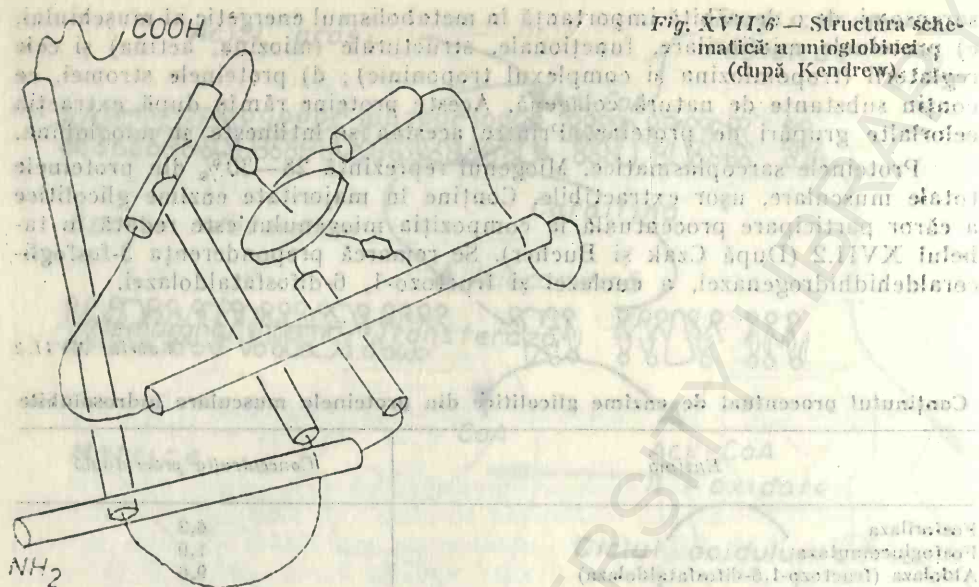
Conținutul procentual de enzime glicolitice din proteinele musculare hidrosolubile

Enzima	Concentrația procentuală
Fosforilaza	6,2
Fosfoglucomutaza	1,9
Aldolaza (fructozo-1,6-difosfataldolaza)	9,6
Triozofosfat-izomeraza	3,1
3-Fosfogliceraldehid dehidrogenaza	22,6
Fosfogliceratkinaza	3,1
Fosfogliceratmutaza	3,7
Enolaza	12,2
Piruvatkinaza	4,4
Lactaldehidrogenaza	3,3
Creatinfosfokinaza	5,7
Adenilatkinaza	0,4
Total	72,2

Mioglobina (cu denumirea veche miohemoglobina) reprezintă un component principal al mușchiului. Este o proteină globulară (greutatea moleculară, 16 770—17 000 daltoni), care conține un singur lanț polipeptidic de 153 resturi aminoacidice, ordonați spațial cu lanțurile izolate ale hemoglobinei (fig. XVII.6). Conține un grup prostetic — hemul — identic cu cel din hemoglobină, capabil de oxigenare reversibilă. Structura sa primară, secundară și terțiară este bine cunoscută în urma lucrărilor lui Kendrew. Are câteva importante caracteristici structurale: moleculă compactă, grupările polare ale aminoacizilor sînt distribuite la suprafață, iar grupările hidrofobe în interior. În zonele de îndoire are resturi de prolină, izoleucină și serină (aminoacizi ce formează cu greu -helix). Mioglobina poate lega o moleculă de oxigen dar cu afinitate mult mai mare decît hemoglobina: curba sa de disociere este un arc de hiperbolă echilaterală. Mioglobina reprezintă pentru mușchi un rezervor de oxigen. Important este faptul că se încarcă cu oxigen la presiuni mult mai scăzute decît acelea la care se încarcă hemoglobina. La presiunea de oxigen a sîngelui venos mioglobina este saturată pînă la 95%. Miocardul\* conține multă mioglobină și citocromi.

\* Încărcătura foarte ridicată a mușchiului cu mioglobină se observă la animalele scufundătoare, care pot sta multe ore sub apă (foca, morsa, balena).





**Proteinele miofibrilare.** Acestea se împart în: proteine contractile, proteine reglatoare, componente proteice minore cu funcție necunoscută. Principalele proteine miofibrilare cunoscute astăzi sînt: miozina, actina (sau miozina B), iar proteinele reglatoare sînt tropomiozina și complexul troponin.

a) Proteine contractile. Miozina reprezintă 35% din totalul proteinelor musculare și 55—60% din proteinele miofibrilare, fiind localizată în filamentele groase ale miofibrilei. Ambiguitățile care există referitoare la dimensiune, compoziție și conformație tridimensională a moleculei se datorează dificultăților de studiu care decurg din disimetria moleculelor și din tendința de asociere cu alte molecule sau de polimerizare. Miozina se extrage în soluție salină 0,6 M KCl (la pH alcalin sau neutru) și precipită prin diluție sau prin dializă. Molecula este fibrilară și are o lungime de 16 000 Å, cu grosime de 30 Å. Este disimetrică, avînd un capăt globular (fig. XVII.7). Soluțiile de miozină prezintă fenomenul de „birefrință de scurgere” datorită disimetriei moleculare. Molecula de miozină este un dimer: conține două lanțuri polipeptidice identice, cu greutate moleculară 200 000—250 000 daltoni ce pot fi separate prin tratarea miozinei cu uree sau guanidină. Sînt cele mai lungi lanțuri polipeptidice cunoscute, avînd fiecare 1 800 de resturi aminoacidice. În majoritatea lungimii lor, aceste lanțuri au conformația  $\alpha$ -helicoidală, răsucindu-se unul în jurul celuilalt, într-o structură dublu helicoidală. Ambele lanțuri posedă structuri globulare la capete, la care sînt atașate încă două lanțuri polipeptidice mai mici. Compoziția aminoacidică arată o mare bogăție în acizi monoaminodicarboxilici și diaminomonocarboxilici, deci o mare bogăție de grupări polare, ce poate explica intensă activitate biochimică a proteinei, în special, față de ioni. Prin elivaj proteolitic blînd, cu tripsină sau chimotripsină, molecula a fost scindată în două fragmente numite meromiozine: unul din fragmente avînd 12 000 daltoni, cu lungimea de cca 900 Å și diametrul 20 Å, iar celălalt, H-meromiozina (HMM),

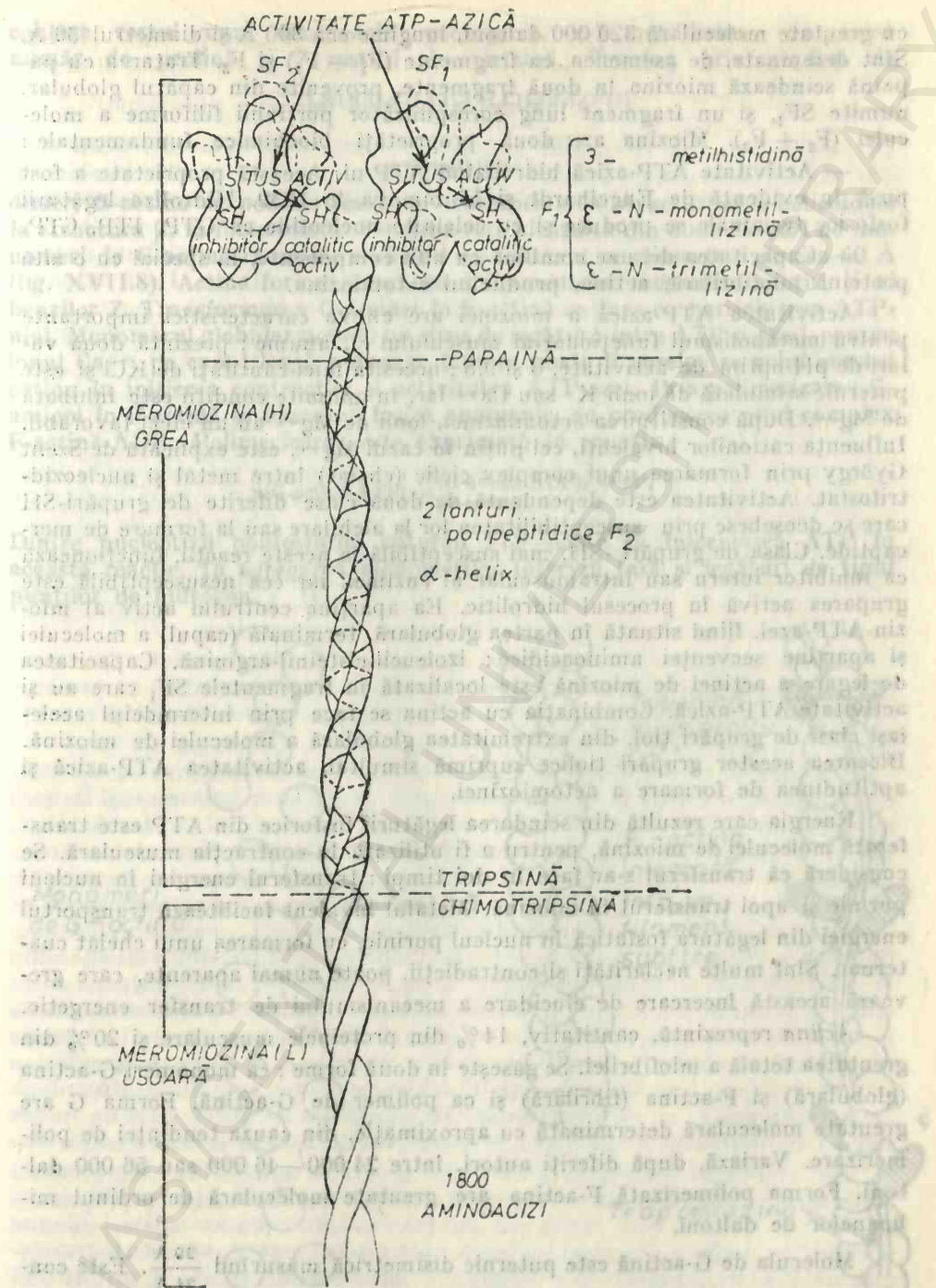


Fig. XVII.7 — Molecula fibrilară disimetrică a miozinei (adaptare după Lehninger).



cu greutate moleculară 320 000 daltoni, lungime cca 800 Å și diametrul 30 Å. Sînt desemnate, de asemenea, ca fragmente ( $F_1 + F_2$ ) și  $F_3$ . Tratarea cu papaină scindează miozina în două fragmente, provenite din capătul globular, numite  $SF_1$ , și un fragment lung corespunzător porțiunii filiforme a moleculei ( $F_2 + F_3$ ). Miozina are două proprietăți biochimice fundamentale :

— Activitate ATP-azică hidrolizînd ATP-ul. Această proprietate a fost pusă în evidență de Engelhardt și Liubimova în 1939. Hidroliza legăturii fosforice terminale se produce și cu celelalte nucleotide ca GTP, ITP, CTP.

— Capacitatea de a se combina cu alte componente, în special cu o altă proteină miofibrilară, actina, producînd actomiozina.

Activitatea ATP-azică a miozinei are cîteva caracteristici importante pentru metabolismul funcțional al mușchiului și, anume : prezintă două valori de pH optim de activitate, 6 și 9,5 ; necesită mici cantități de KCl și este puternic stimulată de ioni  $K^+$  sau  $Ca^{++}$  iar, în anumite condiții este inhibată de  $Mg^{++}$ . După constituirea actomiozinei, ionii de  $Mg^{++}$  au un efect favorabil. Influența cationilor bivalenți, cel puțin în cazul  $Mg^{++}$ , este explicată de Szent György prin formarea unui complex ciclic (chelată) între metal și nucleozid-trifosfat. Activitatea este dependentă de două clase diferite de grupări-SH care se deosebesc prin susceptibilitatea lor la alchilare sau la formare de mercaptide. Clasa de grupări -SH, mai susceptibilă la aceste reacții, funcționează ca inhibitor intern sau intramolecular al enzimei, iar cea nesusceptibilă este gruparea activă în procesul hidrolitic. Ea aparține centrului activ al miozin-ATP-azei, fiind situată în partea globulară, terminală (capul) a moleculei și aparține secvenței aminoacidice : izoleucil-cisteinil-arginină. Capacitatea de legare a actinei de miozină este localizată în fragmentele  $SF_1$  care au și activitate ATP-azică. Combinația cu actina se face prin intermediul aceleiași clase de grupări tiol, din extremitatea globulară a moleculei de miozină. Blocarea acestor grupări tiolice suprimă simultan activitatea ATP-azică și aptitudinea de formare a actomiozinei.

Energia care rezultă din scindarea legăturii fosforice din ATP este transferată moleculei de miozină, pentru a fi utilizată în contracția musculară. Se consideră că transferul s-ar face în doi timpi : transferul energiei în nucleul purinic și apoi transferul în miozină. Metalul bivalent facilitează transportul energiei din legătura fosfatică în nucleul purinic, cu formarea unui chelat cuaternar. Sînt multe neclarități și contradicții, poate numai aparente, care grevează această încercare de elucidare a mecanismului de transfer energetic.

Actina reprezintă, cantitativ, 14% din proteinele musculare și 20% din greutatea totală a miofibrilei. Se găsește în două forme : ca monomeri G-actina (globulară) și F-actina (fibrilară) și ca polimer de G-actină. Forma G are greutate moleculară determinată cu aproximație, din cauza tendinței de polimerizare. Variaza, după diferiți autori, între 24 000—46 000 sau 56 000 daltoni. Forma polimerizată F-actina are greutate moleculară de ordinul milioanei de daltoni.

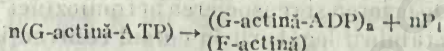
Molecula de G-actină este puternic disimetrică măsurînd  $\frac{29 \text{ Å}}{21 \text{ Å}}$ . Este constituită de un singur lanț polipeptidic a cărui secvență aminoacidică este de tipul N-acetil-asp-glu-thr. Caracteristic este faptul că o moleculă de G-actină

conține restul unui aminoacid neobișnuit,  $\epsilon$ -N-metil-lizina, un mare număr de prolină și 7 resturi de cisteină. Trecând prin stadiul de



$\epsilon$ -N-metil-lizina

dimer, G-actina se polimerizează cu transformarea structurilor  $\alpha$ -helicoidale în structura  $\beta$ , în foaie pliata. F-actina este alcătuită din două rinduri de monomeri de G-actină răsucită, realizând un filament cu diametrul de cca 60 Å (fig. XVII.8). Actina formează scheletul filamentelor musculare subțiri și al benzilor Z. Transformarea G-actinei în F-actină se face cu participarea ATP-ului. Monomerul globular posedă un situs de legătură între ATP și altul pentru ionul  $\text{Ca}^{++}$ , pe care-l leagă puternic, fapt ce poate fi corelat cu rolul acestui cation în inițierea contracției și activitatea ATP-azei. Prin polimerizarea G-actinei în F-actină se liberează fosfat anorganic, cu producerea unui complex F-actină-ADP. Polimerizarea este exprimată în ecuația :



Dintre nucleotizii polifosforici naturali ITP poate să înlocuiască ATP în această reacție. În agregarea monomerilor intervin însă și legături de tipul punților de hidrogen.

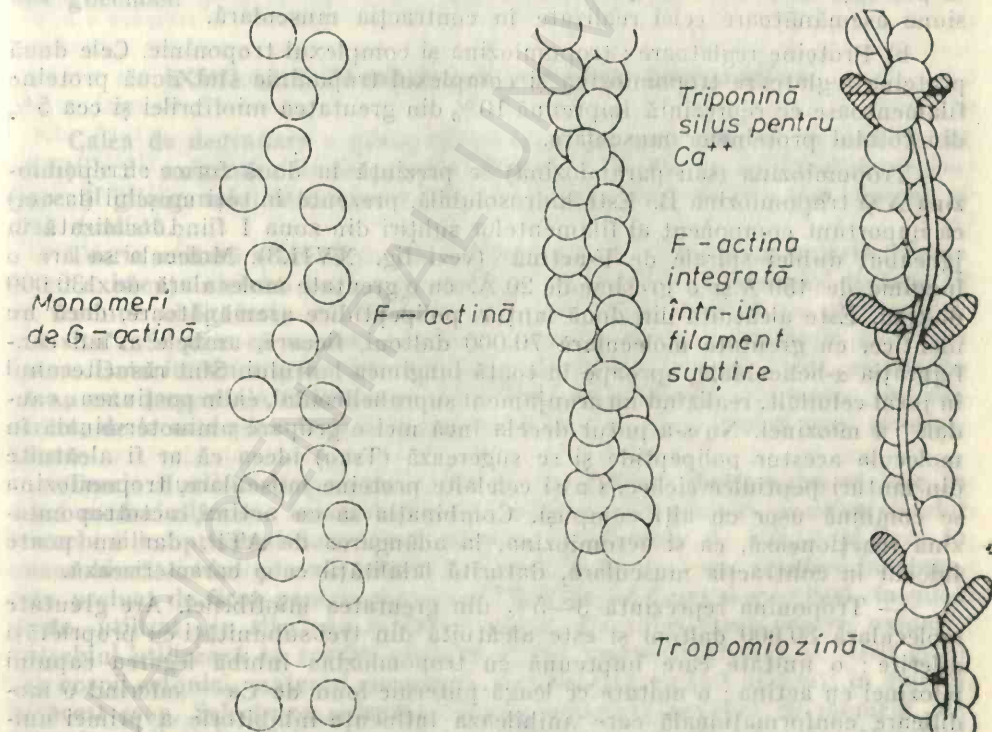


Fig. XVII.8 — Molecula de F-actină alcătuită din monomeri de G-actină : două fire răsucite unul în jurul celuilalt.



**Actomiozina.** Complexele de actomiozină pot fi extrase din mușchi, prin acțiunea prelungită a unei soluții 0,6 M KCl. Raportul molar al monomerilor de  $\frac{\text{G-actină}}{\text{F-actină}}$  în complexe de actomiozină, este aproximativ 1 : 1.

Un lanț de F-actină, ce conține mai mulți monomeri de G-actină, poate lega mai multe molecule de miozină. Numai capetele globulare ale miozinei se leagă de actină. Actomiozina posedă activitatea ATP-azică mai intensă chiar decît a miozinei, de care se deosebește printr-o serie de proprietăți: pH optim în zonă neutră (miozin-ATP-aza în zonă alcalină); este inhibată de ioni  $\text{Ca}^{++}$  și activată de ioni  $\text{Mg}^{++}$ , invers decît miozin-ATP-aza. Dacă actomiozina exercită o acțiune asupra ATP-ului și acesta, la rîndul său, poate modifica profund caracterele actomiozinei; el scade viscozitatea și birefringența soluției de actomiozină, disociind complexul, cu separarea celor două componente, actina și miozina.

Complexele de actomiozină se disociază în prezență de ATP și  $\text{Mg}^{++}$ . Simultan se produce hidroliza ATP-ului. Cînd aceasta este completă, actina și miozina se reagregă. Disocierea și reasocierea actomiozinei pot reprezenta trepte ale întreruperii și stabilirii legăturii în cursul contracției și între contactele dintre filamentele groase și subțiri ale miofibrilei. Cu filamentele de actomiozină s-au realizat interesante modele experimentale ale mușchiului. Filamentele de actomiozină se scurtează cînd se adaugă ATP într-o soluție de 0,5 M KCl, în prezența ionilor de magneziu (în soluție  $10^{-3}$  M). Se creează astfel o tensiune asemănătoare celei realizate în contracția musculară.

b) Proteine reglatoare: tropomiozina și complexul troponinic. Cele două proteine reglatoare tropomiozina și complexul troponinic sînt două proteine filamentoase ce reprezintă împreună 10% din greutatea miofibrilei și cea 5% din totalul proteinelor musculare.

Tropomiozina (sau paramiozina) se prezintă în două forme: tropomiozina A și tropomiozina B. Este hidrosolubilă, prezentă în toți mușchii (la om) ca important component al filamentelor subțiri din zona I fiind localizată în jghebul dublei spirale de F-actină (vezi fig. XVII.8). Molecula sa are o lungime de 450 Å și o grosime de 20 Å, cu o greutate moleculară de 130 000 daltoni. Este alcătuită din două lanțuri polipeptidice asemănătoare, dacă nu identice, cu greutate moleculară 70 000 daltoni, fiecare, ambele avînd configurația  $\alpha$ -helicoidală, aproape în toată lungimea lanțului. Sînt răsucite unul în jurul celuilalt, realizînd un aranjament suprahelicoidal, ca în porțiunea „caudală” a miozinei. Nu s-a putut decela încă nici o grupare aminoterminală în molecula acestor polipeptide și se sugerează (Tsao) ideea că ar fi alcătuite din lanțuri peptidice ciclice. Ca și celelalte proteine musculare, tropomiozina se combină ușor cu alți compuși. Combinația sa cu actina, actotropomiozina reacționează, ca și actomiozina, la adăugarea de ATP, dar nu poate înlocui în contracția musculară, datorită labilității ce o caracterizează.

— Troponina reprezintă 3—5% din greutatea miofibrilei. Are greutate moleculară 80 000 daltoni și este alcătuită din trei subunități cu proprietăți diferite: o unitate care împreună cu tropomiozina inhibă legarea capului miozinei cu actina; o unitate ce leagă puternic ioni de  $\text{Ca}^{++}$  suferind o modificare conformațională care anihilează influența inhibitorie a primei unități asupra interacțiunii dintre miozină și actină; o proteină care determină legarea dintre troponină și tropomiozină.

## XVII.4. CONTRACȚIA MUSCULARĂ

Procesul comportă două importante categorii de fenomene ce se cuplează în acțiunea de contracție musculară : fenomene chimice și fenomene mecanice. Pentru înțelegerea integrării acestor două categorii de procese este necesară prezentarea planului metabolic al mușchiului.

### XVII.4.1. METABOLISMUL MUSCULAR

Acesta este caracterizat prin adecvarea transformărilor biochimice la condițiile contracției, care impune consum mare de energie în timp foarte scurt. Deoarece alimentarea cu oxigen nu este pe măsura necesității energetice, mușchiul posedă o înaltă capacitate glicolitică anaerobă și o încărcătură bogată de compuși macroergici ATP și creatin-fosfat (fosfagenul). Activitatea respiratorie intensă și un aparat mitocondrial puternic se întâlnesc în mușchii tonici. Activitatea glicolitică este foarte puternică în mușchii tetanici. Ca substrat energetic mușchiul consumă glucide, acizi grași și corpi cetonici în aerobioză, iar în anaerobioză exclusiv glucide. Acest țesut nu posedă glucozo-6-fosfatază, fapt care demonstrează că nu intervine în reglarea glicemiei.

#### XVII.4.1.1. Metabolismul energetic, glicogenoliza

Calea de degradare a glicogenului muscular este diferită, în funcție de condițiile de oxigenare ale mușchiului. Pentru a explica mecanismul de degradare al glicogenului muscular au fost elaborate două teorii : una unitară și una dualistă.

Teoria unitară a lui Meyerhof, contradictorie în raport cu vederile clasice și cu existența ciclului Cori, sugerează că degradarea glicogenului trebuie să se termine obligatoriu cu formarea de acid lactic, urmată de glucogeneză „in situ”. Se pare că această teorie nu este în totală contradicție cu realitatea. Datorită unor cercetări experimentale recente, ale lui Hliatt, se admite că nu este imposibilă resinteza glicogenului în mușchi din acid lactic, trecînd, direct, de la acid piruvic la acid fosfoenolpiruvic, sub influența unei piruvat-kinaze.

Teoria dualistă (Lipmann) arată că degradarea glicogenului se face în două moduri diferite : în aerobioză, trecînd prin acid piruvic, pe calea ciclului tricarbolic, procesul terminîndu-se prin producerea de  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$  și în anaerobioză acidul piruvic este redus la acid lactic care, trecînd în sînge, este preluat de ficat pentru gluconeogeneză (ciclul Cori) și eventual, în mică parte, utilizat „in situ” cu același rezultat. Ca substraturi pentru oxidare, mușchiul utilizează în special glicogenul, dar poate cataboliza și acizii grași sau corpi cetonici, material energogen. Aminoacizii nu sînt utilizați în mușchi în acest scop. Selectarea substratului este adecvată nevoilor de moment ale organismului și implică un control metabolic și umoral complex. Mușchiul în repaus folosește glucoza, cu viteză relativ mică. În această stare cca 50%



din glucoză este transformată pînă la acid lactic, ce trece în sînge, restul fiind degradat pînă la  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ , iar o mică parte este depozitată ca glicogen. Miocitul preia acizii grași din sînge, în funcție de concentrația acestora în sîngele arterial.

#### XVII.4.1.2. Metabolismul acizilor grași

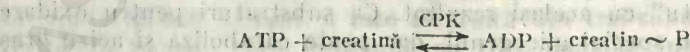
Acizii grași preluați din sînge sînt degradați la nivelul miofibrilelor în proporție de 20%. Restul sînt depozitați ca trigliceride, care la nevoie sînt hidrolizate, iar acizii grași sînt oxidați cu producere de energie. Pentru sinteza trigliceridelor, glicerolfosfatul este obținut din glicerol prin fosforilare pe seama ATP ului și din reducerea dihidroxiacetonfosfatului, produs al glicolizei anaerobe. Prin această ultimă interrelație metabolică sinteza trigliceridelor în mușchi devine dependentă de viteza glicolizei. În travaliul muscular preluarea glucozei din sînge este de 10 ori mai mare decît în repaus iar glicogenoliza este activată prin stimularea fosforilazei. O bună parte din glucoză este transformată în acid lactic, determinînd creșterea lactacidemiei în efort (probă de explorare funcțională). Nivelul catecolaminelor, crescut în efort, determină creșterea lipolizei și a concentrației acizilor grași din sînge, urmată de preluarea crescută a acestora de către miocit cu activitatea căilor metabolice de utilizare. În stare de nealimentare, nevoile energetice ale mușchiului sînt acoperite într-o măsură considerabilă (70%) prin oxidarea acizilor grași. Creșterea oxidării acestora determină, în miocite, o ridicare a concentrației de acetyl-CoA. Blocarea glicolizei determină creșterea glucozo-6-fosfatului care, la rîndul său, inhibă hexokinaza. Experimental s-a arătat de altfel — pe preparate de inimă izolate — că o supraofertă de acizi grași duce la reducerea preluării și consumului de glucoză. În stare de cetoză (diabet), inanție, corpii cetonici sînt preluați și utilizați de miocit, proporțional cu concentrația din sînge. Oxidarea corpiilor cetonici necesită activarea acetoacetatului la acetoacetyl-CoA prin reacția de transfer:

Succinil-CoA + acetoacetat  $\rightarrow$  succinat + acetoacetyl-CoA, catalizată de succinil-CoA-acetoacetat transferaza.

#### XVII.4.1.3. Metabolismul compușilor macroergici:

##### ATP și creatinfosfat (fosfagenul)

Experiența lui Lundsgaad, care a arătat că mușchiul intoxicat cu moniodacetat\* continuă să se contracte citva timp, a condus la descoperirea rolului pe care compușii macroergici îl au în energetica musculară alături de procesele oxidative. O sursă imediată de energie este sistemul celor doi compuși fosforilați macroergici, ATP și creatinfosfatul care sînt cuplați prin creatinkinază (CPK), ce catalizează reacția:

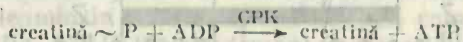


Desfășurarea reacției într-un sens sau altul depinde de raportul concentrațiilor reactanților. Sinteza creatinfosfatului este posibilă numai în perioadele de

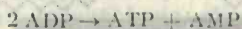
\* Moniodacetatul blochează glucoza la studiul triozo-fosfaților.

repaus, cînd se acumulează ATP; ATP-ul și creatinfosfatul reprezintă o rezervă de legături macroergice a mușchiului în repaus, conținutul în fosfocreatină fiind de 4—6 ori mai ridicat decît în ATP. În perioadele de activitate creatinfosfatul cedează ADP-ului restul fosfat macroergic, generînd ATP. ATP-ul este compusul a cărui descompunere (în ADP și P<sub>i</sub>) joacă rolul capital în concentrația musculară în raport nemijlocit cu transformările proteinelor contractile, implicate în proces. El trebuie deci să fie sintetizat (prin fosforilarea ADP-ului) pentru a asigura contracțiile ulterioare.

În miocit, în perioada inițială de activitate, se utilizează mai întîi ATP-ul existent ca atare, după care urmează cel obținut prin reacția catalizată de creatin-fosfokinază:



Energia legăturilor macroergice din ADP poate fi și ea folosită prin intermediul reacției:



catalizată de miokinaza (adenilatkinază). Activitatea contractilă prelungită a mușchiului este însă susținută energetic numai prin sinteza continuă a ATP-ului prin fosforilări oxidative, cuplate fie cu secvența glicolică anaerobă, fie cu lanțul respirator alimentat cu hidrogen provenit prin oxidarea acizilor grași, a corpurilor cetonice și într-o mai mică măsură a glucozei. După încetarea activității crește progresiv concentrația ATP-ului și se restabilesc rezervele tisulare de fosfagen.

## XVII.4.2. TEORIILE CONTRACȚIEI MUSCULARE

Diferitele teorii propuse pentru a explica cuplarea fenomenelor chimice și a celor mecanice în contracția musculară, pot fi în esență reduse la două tipuri: teoria modificărilor conformaționale și teoria alunecării.

### XVII.4.2.1. Teoria modificărilor conformaționale

Modificările conformaționale ale proteinelor musculare, ce determină scurtarea lor (și deci a filamentelor fibrilare), ar explica efectuarea contracției. În acest caz, proteinele contractile s-ar comporta ca resorturi cu variate grade de contracție și relaxare. În figura XVII.9 *a*, este redat unul din modelele contracției musculare, bazată pe ipoteza spiralării, adică pe modificarea conformațională a proteinelor contractile (după Podolski). În figura XVII.9, *b*, este redat modelul lui Morales.

Din analiza spectrelor de difracție cu raza X s-a dedus că majoritatea proteinelor au conformație  $\alpha$ -helicoidală. Pentru explicarea contracției musculare s-au făcut ipoteze atât în sensul posibilității de transformare a structurilor, în „foaie pliantă” în  $\alpha$ -helicoidale, cit și reciproc (Astbury). Această ultimă ipoteză, a unei transformări, denumită „supercontracția”\*, a configura-

\* Configurația „supercontractată” a fost descoperită în flagelul mobil al bacteriilor, mișcările ritmice ale acestuia fiind datorate transformărilor reversibile  $\alpha$ - $\beta$ . Invelișul contractil al cozii bacteriofagului este un veritabil mușchi monomolecular.



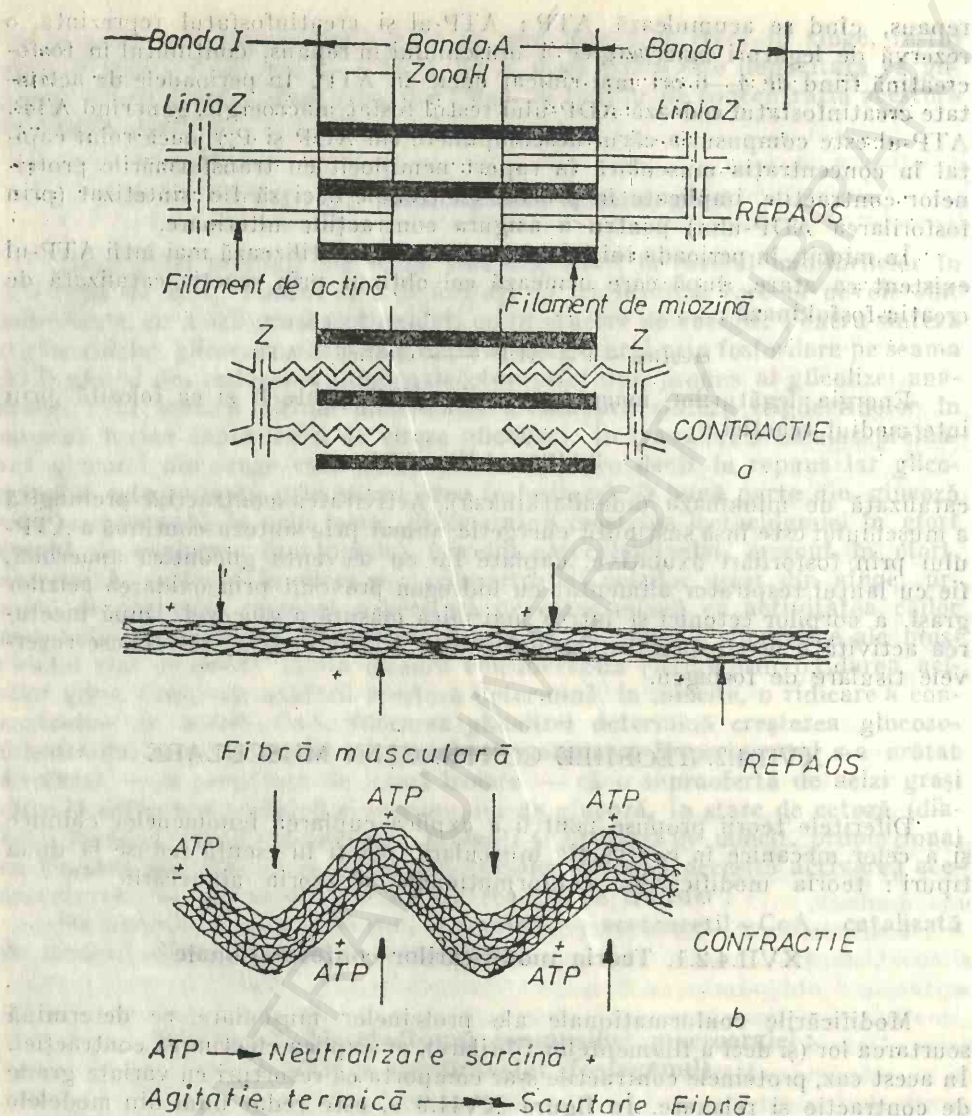


Fig. XVII.9 — a) Un model al contractiei musculare bazat pe modificarea conformatională a proteinei contractile (ipoteza spiralării). b) modelul Morales, mecanismul prin care legarea ATP induce contractia.

rației  $\alpha$  într-o structură  $\beta$  transversă, a fost realizată experimental „in vitro” (prin tratarea actomiozinei cu agenți fizici și chimici blânzi, cît și în cursul transformării actinei-G în actină-F). Transformarea aceasta nu a putut fi decelată pe mușchiul de om. Absența modificării în periodicitatea axială din timpul contractiei musculare constituie un puternic argument în favoarea celui de al doilea tip de teorie, anume aceea a alunecării.

### XVII.4.2.2. Teoria alunecării (Hanson-Huxley)

Alunecarea (glisarea) filamentelor de actină de-a lungul celor de miozină ar explica, după Hanson-Huxley, scurtarea mușchiului în contracție. Este desigur teoria cea mai admisă până în prezent, deși nu unanim recunoscută. Din alunecarea preconizată rezultă o apropiere a discurilor Z cu o scurtare a lungimii sarcomerului la cea  $2/3$  din lungimea pe care o are în stare de relaxare. Benzile I și zona H își scurtează lungimea și dispar aproape complet, în timp ce distanța Z—H rămâne relativ constantă. Filamentele de actină și cele de miozină se suprapun aproape complet, lungimile lor rămânând aceleași (fig. XVII.10). În timpul contracției, punțile „în cruce” se așază astfel încît un unghi de  $45^\circ$  cu axa longitudinală a fibrei, stabilind un contact între filamentele de miozină și cele de actină. Bilanțul energetic al travaliului muscular a dus la concluzia că pentru o deplasare de  $130 \text{ \AA}$

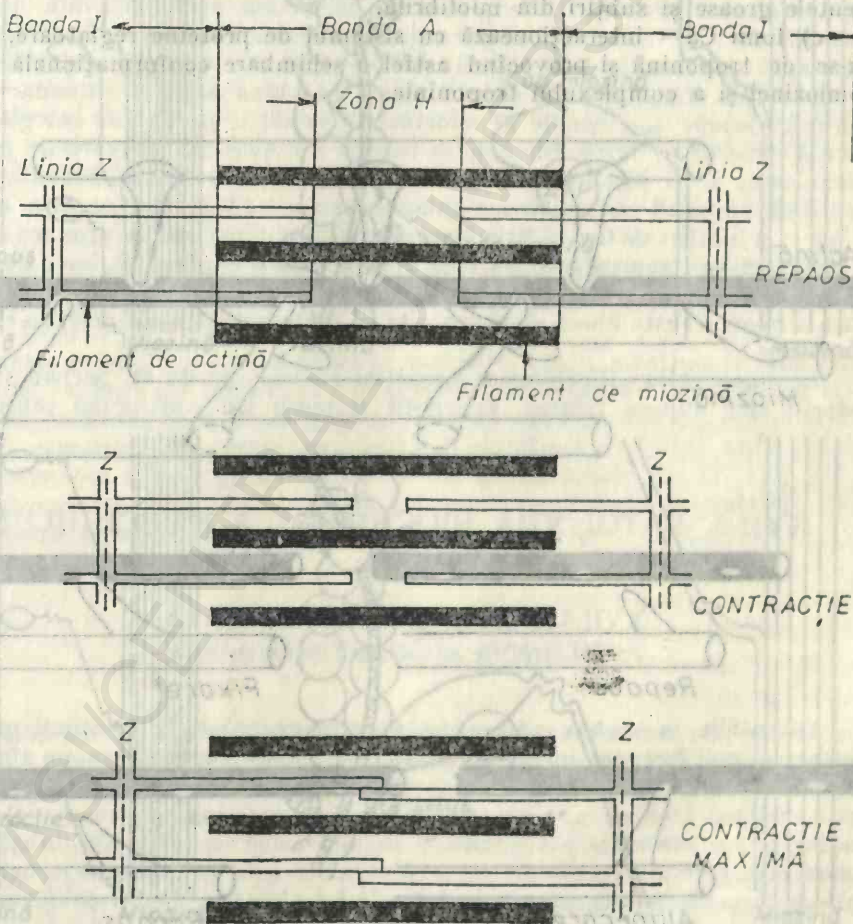


Fig. XVII.10 — Reprezentarea schematică a teoriei „alunecării” Hanson-Huxley.



este necesară o moleculă de ATP. Viteza de scurtare a unui mușchi implică formarea a 30—100 punți actină-miozină/secundă. Ca urmare a hidrolizei ATP-ului sub acțiunea miozin-ATP-azei, o punte eliberată din miozină se fixează pe situsul activ al actinei, apoi se retrage antrenând filamentul de actină către centrul sarcomerului. Mișcarea se repetă la nivelul situsului următor al filamentului de actină. Deplasarea se produce deci printr-un mecanism „cu clichet” indicat în figura XVII.11. Ținând seama atât de integrarea funcțională a proteinelor contractile și a celor reglatorii, cât și de reacțiile chimice fundamentale ce se asociază în contracția musculară, desfășurarea procesului poate fi considerată că are loc în șase timpi.

a) Impulsul nervos determină o schimbare a potențialului de acțiune la nivelul sarcomelei, depolarizarea fiind transmisă prin sistemul „T”, în membranele reticulului endoplasmatic, a căror permeabilitate crește, ca urmare a acestei modificări.

b) Ionii de calciu sînt eliberați din cisternele reticulului endoplasmatic în sarcoplasma miofibrilelor, declanșînd interacțiunea dintre ATP și filamentele groase și subțiri din miofibrilă.

c) Ionii  $\text{Ca}^{++}$  interacționează cu sistemul de proteine reglatoare, legîndu-se de troponină și provocînd astfel o schimbare conformațională a troponomiozinei și a complexului troponinic.

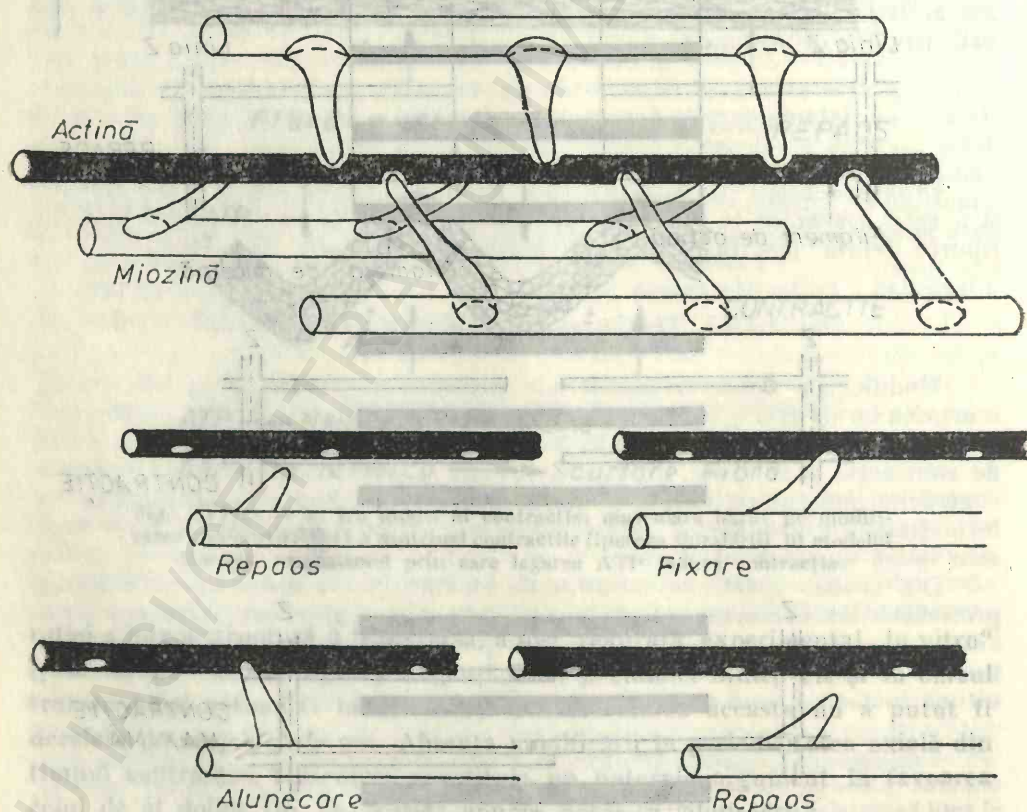


Fig. XVII.11 — Mecanismul „cu clichet” ce poate interveni în alunecare.

d) Prin aceste modificări este dezinhibată interacția actină-miozină, producându-se fixarea „capului” de legătură a miozinei cu actina.

e) Miozin-ATP-aza este activată prin actină și hidrolizează o moleculă de ATP. Concomitent, se produce o schimbare conformațională a capului miozinei.

f) Această modificare provoacă o mișcare a „punții”, condiționind realizarea mecanismului „cu clichet” ce deplasează actina.

Interacțiunile morfomoleculare ale acestui mecanism sînt redată în figura XVII.12.

Concentrația și mișcarea ionilor de calciu au o deosebită importanță pentru desfășurarea contracției musculare. În stare de relaxare concentrația

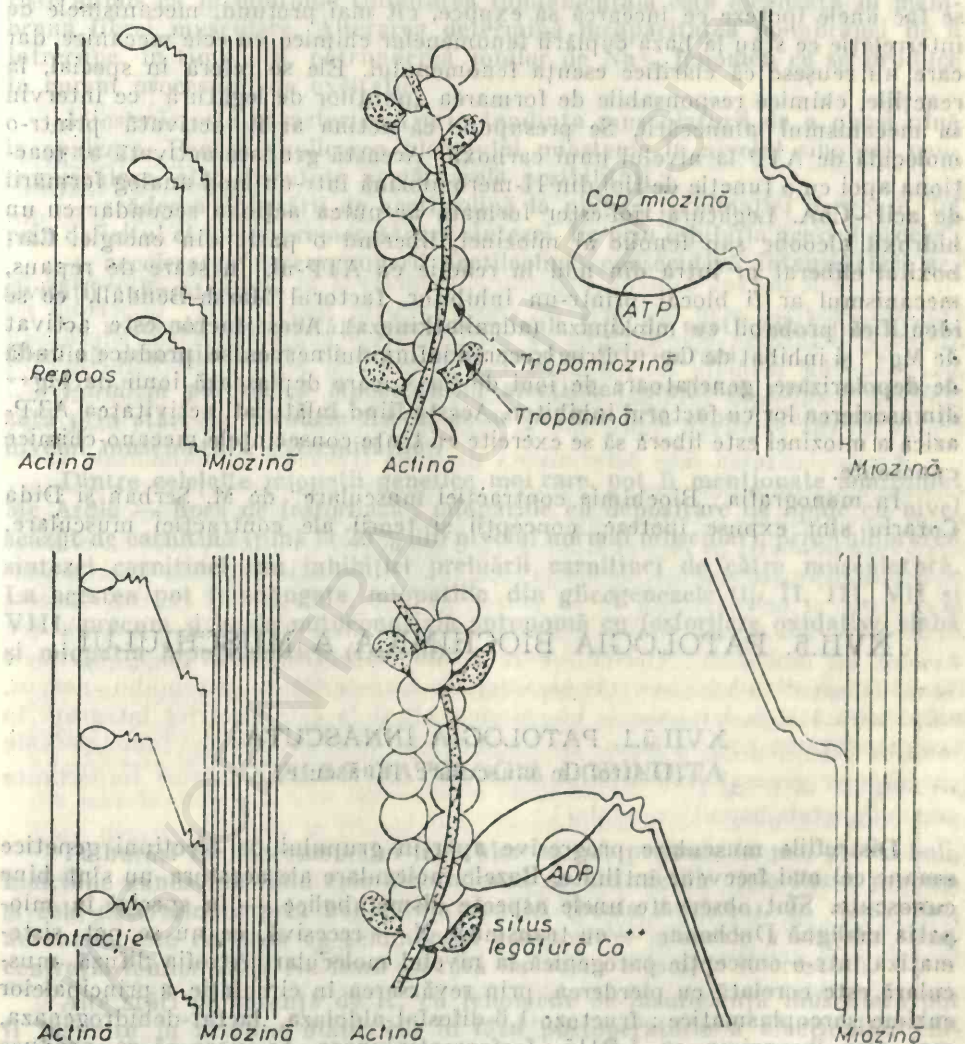


Fig. XVII.12 — Interacții morfo-moleculare în desfășurarea contracției musculare.



ionilor liberi de calciu este  $1 \cdot 10^{-7}$  M, ca urmare a sechestrării lor în reticulul endoplasmatic. Pentru fiecare moleculă de ATP hidrolizat, se acumulează unul sau mai mulți atomi de  $\text{Ca}^{++}$ . Capacitatea reticulului sarcoplasmatic de a sechestra  $\text{Ca}^{++}$  este socotită „factor de relaxare” (relaxing factor). Se presupune că segregarea  $\text{Ca}^{++}$  în reticulul sarcoplasmatic este rezultatul unui transport activ printr-o pompă de  $\text{Ca}^{++}$ , ATP-dependentă ce poate funcționa chiar împotriva gradientului de concentrație. Studii recente au arătat că mușchii bogați în mitocondrii (fibre roșii) sechestrează  $\text{Ca}^{++}$  în aceste organite, în faza de relaxare. Concentrația de cca  $1 \cdot 10^{-6}$  M a ionilor de  $\text{Ca}^{++}$  liberi (în sarcoplasmă) constituie pragul dincolo de care se declanșează contracția. Această cantitate de  $\text{Ca}^{++}$ , liberată din reticulul endoplasmatic este suficientă pentru a satura situsul de legare din troponină. Actualmente se fac unele ipoteze ce încearcă să explice, cit mai profund, mecanismele de interrelație ce stau la baza cuplării fenomenelor chimice cu cele mecanice dar care nu reușesc să clarifice esența fenomenului. Ele se referă în special, la reacțiile, chimice responsabile de formarea „punților de legătură” ce intervin în mecanismul alunecării. Se presupune că actina ar fi activată printr-o moleculă de ATP la nivelul unui carboxil. Această grupare activată ar reacționa apoi cu o funcție de tiol din H-meromiozină într-un mod analog formării de acil-CoA. Legătura tiol-ester formată ar putea acționa secundar cu un hidroxil alcoolic sau fenolic al miozinei, liberând o parte din energie. Carboxilul eliberat ar intra din nou în reacție cu ATP-ul. În stare de repaus, mecanismul ar fi blocat printr-un inhibitor, factorul Marsh-Bendall, ce se identifică probabil cu miokinaza (adenilatkinaza). Acest factor este activat de  $\text{Mg}^{++}$  și inhibat de  $\text{Ca}^{++}$ . Prin trecerea influxului nervos se produce o undă de depolarizare, generatoare de ioni de  $\text{Ca}^{++}$ , care deplasează ionii de  $\text{Mg}^{++}$  din asocierea lor cu factorul inhibitor. Acesta fiind înlăturat, activitatea ATP-azică a miozinei este liberă să se exercite cu toate consecințele mecano-chimice cunoscute.

În monografia „Biochimia contracției musculare” de M. Șerban și Dida Cotariu sînt expuse ipoteze, concepții și teorii ale contracției musculare.

## XVII.5. PATOLOGIA BIOCHIMICĂ A MUȘCHIULUI

### XVII.5.1. PATOLOGIA INNĂSCUTĂ

#### (D strofiile musculare innăscute)

Distrofiile musculare progresive aparțin grupului de afecțiuni genetice umane cel mai frecvent întîlnite. Bazele moleculare ale acestora nu sînt bine cunoscute. Sînt observate unele aspecte dismetabolice — în special în miopatia malignă Duchenne — cu transmisie X — recesivă, ce nu se pot sistematiza într-o concepție patogenică la nivelul molecular. Atrofia difuză musculară este corelată cu pierderea, prin revărsarea în circulație, a principalelor enzime sarcoplasmice: fructozo-1,6-difosfat-aldolaza, lactat-dehidrogenaza, mai ales izoenzima sa LDH5, fosfocreatinkinaza. Se pare că se produce atît deprimarea energogenezei celulare, cit și utilizarea insuficientă a legă-

turilor fosfatmacroergice pentru întreținerea mecanismelor endergonice de control ale permeabilității selective ale sarcolemei. În stadii mai avansate glicoliza anaerobă scade pînă la 25% din valoarea normală. S-a pus în evidență, în anumite faze, și un turn-over exagerat al miozinei, interpretat ca expresie a unui catabolism crescut caracteristic mușchiului embrionar, concordant cu „fetalizarea” unor modele izoenzimatic (aldolaza, LDH, cu preponderența fracțiunii a III-a hibride). Ca expresie a tulburării metabolismului muscular și ca indicator al severității procesului se produce creșterea creatinei urinare.

*Miotonia*, boală relativ rară, este caracterizată prin rigiditatea musculară, relaxarea musculară instalându-se foarte lent, după o concentrație voluntară. Este admis că în miotonie tulburarea fundamentală este localizată în membrana fibrei musculare. Alterarea determină incapacitatea membranei de a întrerupe, în timp util, pătrunderea ionilor de  $\text{Na}^+$ , fenomen ce se produce în cursul procesului de excitație.

*Miastenia* este caracterizată prin tendința musculaturii de a obosi pînă la epuizare. Pentru explicarea blocajului miastenic la nivelul sinapsei neuromusculare, sînt discutate următoarele posibilități:

- scăderea eliberării de acetilcolină la nivelul terminației nervoase, fie prin deficitul etapelor premergătoare sintezei, fie prin inhibiția acestui proces;
- accelerarea descompunerii acetilcolinei consecutivă intensificării activității colinesteraze;

- scăderea sensibilității plăcii terminale față de acetilcolină (efect acetilcolină desensibilizant) de tipul celui produs prin curara.

*Paralizia paroxislică hipokalemică*, afecțiunea ereditară rară, caracterizată prin stări de paralizie flască, ce se produc prin crize, preponderent la nivelul musculaturii extremităților.

Dintre celelalte miopatii genetice mai rare, pot fi menționate sindromul Mc Ardle — lipsa de fosforilază; miopatiile cu depozitare de lipide cu nivel scăzut de carnitină (pînă la 20% din nivelul normal muscular), prin tulburarea sintezei carnitinei sau inhibiției preluării carnitinei de către musculatură. La acestea pot fi adăugate miopatiile din glicogenezele tip II, III, VII și VIII, precum și boala mitocondrială autonomă cu fosforilare oxidativă slabă și miopatia hipoglicolică (Larsen).

## XVII.5.2. PATOLOGIA DOBÎNDITĂ

Tulburări ale mecanismului muscular se pot produce în mai multe boli, mai bine cunoscute fiind cele determinate de disfuncțiile tiroidiene, precum și cele determinate prin bolile suprarenalei (boala Addison). În acest caz, adinamia este corelată cu schimbarea compoziției minerale a singelui, concentrația ionilor  $\text{Cl}$  și  $\text{Na}$  fiind scăzută iar aceea a ionilor  $\text{K}$  crescută.

Alte stări de carență de  $\text{K}$ , cu fenomene de insuficiență musculară pot fi întîlnite în acidoza diabetică, în faza postoperatorie a afecțiunilor chirurgicale, în diareele persistente, în sindroamele cu vărsături abundente, sprue.



## Cap. XVIII. BIOCHIMIA SISTEMULUI NERVOS

Sistemul nervos central și cel periferic, precum și sistemul vegetativ-simpatic și parasimpatic, îndeplinesc un rol capital în desfășurarea funcțiilor întregului organism, deși ponderal, țesutul nervos reprezintă numai 1/40 din greutatea totală a corpului.

Sistemul nervos central, primește, prelucrează și conservă semnalele ce vin din exterior prin organele de simț. Creierul intermediar, împreună cu hipofiza, realizează coordonarea pe plan superior neuro-endocrin, suprapusă mecanismelor primare de reglare a metabolismului celular. Sistemul nervos periferic transportă influxul nervos, de la centru la periferie și reciproc. Sistemul nervos vegetativ intervine în reglarea echilibrului visceral funcțional.

Particularitatea este determinată de două trăsături fundamentale funcționale ale sistemului nervos : rapiditatea manifestării unor fenomene și caracterul lent al altora. Astfel, viteza de propagare a influxului nervos atinge câteva sute de metri pe secundă, iar durata excitației unui nerv este de ordinul milisecundelor. În schimb, memoria este, foarte probabil, expresia unor schimbări lente și perseverente ce se petrec cu sistemul nervos central. Bazele moleculare ale acestor două trăsături nu sînt bine cunoscute, majoritatea datelor de biochimie referindu-se la prima trăsătură. După Rappaport cele două trăsături alcătuiesc „contradicția” caracteristică sistemului nervos, referitoare atât la fenomenele biochimice, cît și la cele electrice integrate în funcționalitatea acestui țesut. Pe lângă aceste două proprietăți fundamentale cu caracter general trebuie subliniate încă alte câteva trăsături importante privind metabolismul creierului :

— izolat prin bariera hemato-encefalică, creierul trebuie să-i asigure sinteza unui număr mare de molecule — structurale și funcționale — ce se produc cu continuitate. Această barieră este totuși permeabilă pentru glucoză, majoritatea acizilor aminați, baze purinice și pirimidinice, nucleozide ;

— sinteza și catabolismul moleculelor funcționale se efectuează într-un ritm extrem de rapid, reflectat în traseele electroencefalografice ;

— există mari diferențe regionale privind compoziția chimică și posibilitățile metabolice ale constituenților ;

— metabolismul țesutului nervos este influențat de vîrstă. În creier nu se petrec, ca în alte organe, fenomene de regenerare sau hiperfuncție compensatorie;

— celula nervoasă trebuie să asigure nutriția extremității sale axonice, segment capital pentru funcționalitatea sinapselor care solicită o intensă activitate metabolică.

În studiul metabolismului țesutului nervos se întîmpină mari dificultăți datorate complicatei structuri a creierului, numeroaselor sale corelații metabolice, vitezei și labilității metabolismului său. Explorarea directă a metabolismului cerebral se face prin studii comparative, între singele carotidian și cel jugular. Fluxul cerebral sanguin este investigat prin procedee de difuzie cu  $N_2O$  sau cu substanțe marcate cu radioizotopi. Caracterizările enzimometabolice se fac pe secțiuni tisulare sau pe celule izolate în culturi, precum și prin izolarea sistemelor enzimatice prin ultracentrifugare.

Datorită vitezei mari cu care se petrec modificările biochimice în țesutul nervos, este necesară fixarea rapidă a organului sau țesutului prin înersare în azot lichid, înaintea aplicării procedeelor de studiu menționate.

## XVIII.1. ELEMENTE STRUCTURALE ALE ȚESUTULUI NERVOS

### XVIII.1.1. NEURONII

Neuronii sau celulele nervoase sînt elemente de bază ale sistemului nervos. Din punct de vedere morfologic, neuronii posedă elemente ultrastructurale, comune cu toate celelalte celule: — citoplasmă, nucleu, aparat Golgi, reticul endoplasmatic neted și rugos — acesta din urmă fiind denumit și substanța Nissl. Posedă însă și structuri caracteristice, adecvate funcției de conducere a influxului nervos. Acestea sînt dendritele, scurte prelungiri ale corpului celular ce poartă impulsul către alți neuroni și axoni, prelungiri lungi ce duc impulsul nervos către neuronii vecini. La vertebrate axonul este învăluit într-o teacă de mielină (foarte bogată în lipide) ce constă din membranele celulelor Schwann ai căror nuclei se găsesc de-a lungul tecii. Este practic absentă în fibrele fine, nemielinizate ale sistemului nervos autonom (fig. XVIII.1). Prin intermediul acestor prelungiri celula nervoasă își îndeplinește funcția de preluare, prelucrare și transmisie a informației. Neuronii sînt cele mai mari celule din organism al căror volum oscilează între 1 000  $\mu$  și 100 000  $\mu$ , iar prin prelungirile lor posedă o mare suprafață disponibilă pentru interacții metabolice. Sînt celule foarte bogate în reticul endoplasmatic, ribozomi (substanța Nissl) avînd și nucleoli mari ce sugerează o intensă activitate de sinteză proteică. O trăsătură caracteristică



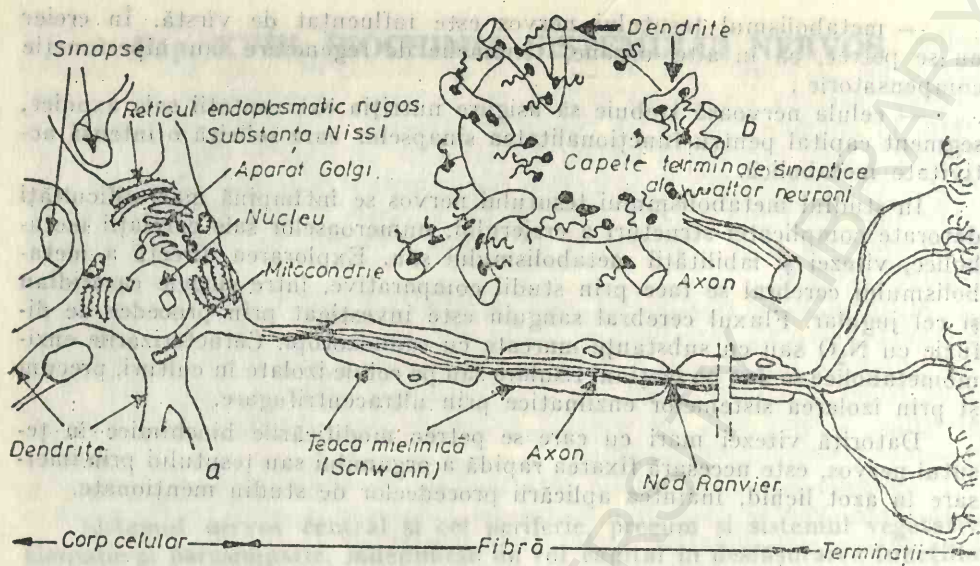


Fig. XVIII.1 — a) Reprezentarea schematică plană a unui neuron cu axon mielinizat b) reprezentarea spațială a unui neuron izolat în contact cu capetele terminale, sinaptice, ale altor neuroni.

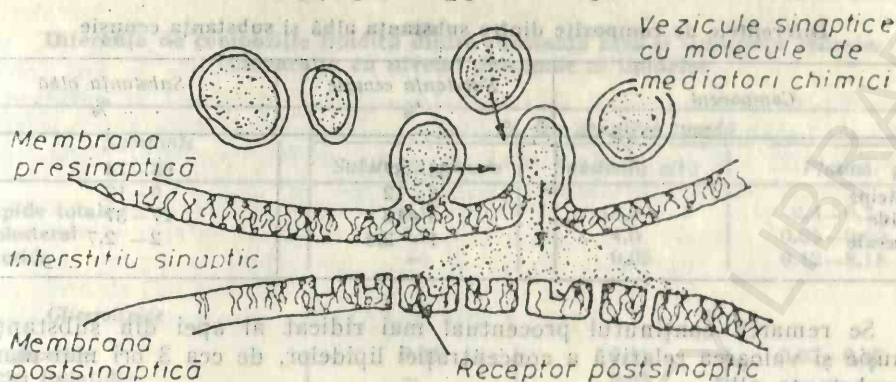
neuronilor este faptul că ei nu se înmulțesc și numai o parte din genomul lor este activ. Între ei sînt însă mari diferențe biochimice legate de medietorii chimici și de structura ARN.

## XVIII.1.2. SINAPSELE

Axonul și dendridele îngroșate în partea lor terminală vin în contact cu suprafața celulară a altui neuron. Aria de contact are o structură specială denumită *sinapsă*, corespunzînd unor joncțiuni interneuronale, centrale sau periferice sau de tipul plăcii terminale prin care se face legătura între neuronii motori și mușchi. Sinapsele centrale reprezintă punctele nodale ale vastei rețele tridimensionale din creier.

Transmisia excitației la nivelul sinapselor interneuronale sau al plăcii terminale din miofibrile se bazează pe liberarea substanțelor chimice, denumite neurotransmițători sau medietori chimici ai transmisiei, asupra cărora se va reveni. În mulți neuroni medietorii chimici sînt depozitați în veziculele capătului presinaptic al terminațiilor nervoase. Cînd influxul nervos atinge domeniul sinaptic al axonului, impulsul poate trece mai departe în momentul în care membrana postsinaptică devine permeabilă pentru curentul ionic prin libertatea medietorilor chimici (fig. XVIII.2). Un nerv este alcătuit de obicei dintr-un fascicul de mai mulți neuroni.

## CELULA PRESINAPTICĂ



## CELULA POSTSINAPTICĂ

Fig. XVIII.2 — Reprezentarea schematică a membranelor pre- și postsinaptice, cu eliberarea neuro-transmițătorilor chimici.

### XVIII.1.3. CELULELE GLIALE

Acestea îndeplinesc funcția de susținere, apărare și nutriție a neuronului. Se înmulțesc rar și nu participă la transmiterea curentului nervos. Sunt bogate în lipoproteine și transformă rapid ARN. Din această categorie fac parte celulele Schwann care intră în teaca ce îmbracă axonul nervilor periferici, cit și astrocitele. Cantitativ, 20% din masa cerebrală este reprezentată și prin elemente conjunctive alcătuite din proteoglicani și proteine structurale.

## XVIII.2. COMPOZIȚIA ȚESUTULUI NERVOS

Nu se poate vorbi de o compoziție unitară a țesutului nervos. Astfel în creier, împărțirea în mare a substanței cerebrale în albă și cenușie corespunde și unor diferențe cunoscute în planul molecular de organizare, care apare chiar și între variatele zone funcționale ale substanței cenușii. În contextul cerebral, sunt diferențe chimice între straturi. În tabelul XVIII.1, sunt redate valori orientative, referitoare la diferențele de compoziție dintre substanța albă și cea cenușie.



Diferențele de compoziție dintre substanța albă și substanța cenușie

Component	Substanța cenușie %	Substanța albă %
Apă	83—87	68—74
Proteine	8—12	9—12
Lipide	5—13	17—37
Minerale	1—2,6	2—2,7

Se remarcă conținutul procentual mai ridicat al apei din substanța cenușie și valoarea relativă a concentrației lipidelor, de cea 3 ori mai mare în substanța albă.

### XVIII.2.1. ELECTROLIȚII

Concentrația ionică în celula nervoasă este dependentă de cea din lichidele interstițiale, care stabilesc legătura dintre sînge, lichidul cefalo-rahidian (l.c.r.) și neuroni. Bariera hematoencefalică, prin permeabilitatea sa selectivă, exercită o triere a moleculelor și ionilor care o traversează. Concentrația anionilor în creier este mai mică decît aceea a cationilor, raportul fiind 75 vali\* anioni/166 vali cationi. Clorul are o concentrație de numai 75 vali/g de țesut cerebral, în timp ce în l.c.r. concentrația atinge 127 vali/ml, mai ridicată decît decît în plasmă (107 vali/ml). Se presupune că excesul de cationi ar fi anihilat prin combinația lor cu fosfatidele. Fosfatidilserina ar lega 16% din  $K^+$  și 20% din  $Na^+$ , difosfoinozotidele, 50% din  $Ca^{++}$  și  $Mg^{++}$ , iar sulfatidele 12% din  $K^+$ . În acest mod indirect, fosfatidele ar interveni în activitatea funcțională a țesutului nervos, prin acțiunea lor asupra concentrației cationilor cu rol important în realizarea potențialului de membrană și în transmitia impulsului nervos.

### XVIII.2.2. LIPIDELE

În general, țesutul nervos are cel mai ridicat conținut lipidic dintre toate țesuturile din organism, atingînd nivelul de 50—54% din greutatea sa uscată. Fosfolipidele sînt preponderente în raport cu celelalte lipide. În tabelul XVIII.2 este înscrisă compoziția lipidică, diferențială, între substanța albă și substanța cenușie în comparație cu nivelul plasmatic al lipidelor.

\* 1 val = 1 mili Eq

**Diferența de compoziție lipidică dintre substanța albă și substanța cenușie, comparativ cu nivelul plasmatic al lipidelor**

Substanțe	% din greutatea umedă		
	Substanță cenușie	Substanță albă	Plasmă
Lipide totale	5,9	19,0	0,4—0,7
Cholesterol	1,0	4,0	0,05—0,09
Steride	—	0,05	0,12—8,18
<i>Glicerolipide</i>			
Trigliceride	0,03	0,11	0,07—0,17
Acizi fosfatidici	—	0,05	—
Lecitine	1,1	1,4	—
Fosfatidil-etanolamine	0,6	0,4	—
Fosfatidil-serine	0,6	1,5	0,15—0,25
Cefaline	0,2	0,5	—
Plasmalogene	0,7	3,3	—
Fosfo-inozitide	0,15	0,3	—
<i>Sfingolipide</i>			
Sfingomieline	0,3	1,3	—
Cerebrozide	0,3	3,8	0,004—0,006
Sulfatide	0,2	1,2	—
Ganglioizide	0,3	0,5	—

Lipidele din substanța albă — care participă la formarea tecilor de mielină — au o compoziție relativ aparte, ce le deosebește de celelalte țesuturi. Conțin foarte puține steride și aproape deloc trigliceride (cele mai abundente lipide în alte țesuturi). Partea principală este alcătuită din fosfolipide, de diferite feluri și din derivați de sfingozină fără fosfor. Conținutul în colesterol este ridicat în substanța albă (tabelul XVIII.3).

Tabelul XVIII.3

**Distribuția lipidelor în țesutul nervos (procente din masa uscată)**

Substanța totală uscată	Substanță cenușie	Substanță albă
Lipide totale	35,1	61,2
colesterol	5,1	13,8
cerebrozide	4,2	16,0
fosfolipide	20,4	26,5
lecitine	7,3	5,7
cefaline	11,3	17,1
sfingomieline	1,8	3,7
digliceride	1,1	—



Lipidele cerebrale au mai ales un rol structural și nu par să fie folosite ca substrat energetic. Multe dintre ele sînt asociate cu proteinele, iar altele cu glucidele. Proteolipidele, insolubile în apă, există sub trei forme (A, B, C) diferite prin conținutul lor lipidic. Lipoproteinele solubile în apă intră în constituția tecii mielinice. Glicolipidele se găsesc, în special, în substanța albă sub formă de cerebrozide, gânglioizide și strandină. Diferitele variații de lipide sînt sintetizate de celulele țesutului nervos. Anumite fosfolipide pot traversa bariera hematoencefalică trecînd în l.c.r.

### XVIII.2.3. PROTEINELE

Acestea reprezintă în ansamblu 40% din greutatea uscată a creierului. Sînt alcătuite din trei fracțiuni diferite:

(a) *O fracțiune hidrosolubilă*, comună cu alte țesuturi, la care se adaugă proteine specifice țesutului nervos. Dintre acestea pot fi menționate:

— *cerebrocupreina* cu greutate moleculară 35 000 daltoni, purtătoare a doi atomi de cupru;

— *proteine fibroase*, unele asemănătoare collagenului și

— *o proteină foarte acidă*, bogată în acizi aminați dicarboxilici (deserisă de Moore) cu greutate moleculară de 20 000 daltoni.

b) *Proteinele din formațiunile membranoase*, solubile în solvenți polari. Printre acestea se găsesc proteolipidele mielinice. Au un conținut ridicat de aminoacizi hidrofobi și aromatici. În cantitate mare se găsește o proteină bazică, ce prin injectare produce fenomene inflamatorii și degenerative, denumită proteina encefalitogenă. Se presupune că ea joacă un rol și în geneza sclerozei în plăci.

c) *O proteină reziduală* (după extracția apoasă și organică) denumită neurocheratină, numai pe baza caracterului de rezistență la acțiunea enzimelor, comun cu al cheratinei, față de care nu are nici o asemănare din punct de vedere chimic. Este deosebit de abundentă în substanța albă, tecile de mielină și neuroglie.

În ultimii ani s-a abordat studiul *fundamental molecular al memoriei*, legîndu-l de metabolismul ARN și sinteza proteinelor. Există tendința de a apropia — ca mecanism de producere — fenomenul de memorizare de acela al producției de anticorpi. S-a emis o ipoteză conform căreia influxul nervos acționează direct asupra sistemului de reglare a biosintezei proteinelor. Influxul nervos ar induce sinteza de ARN mesager a unei proteine de „memorie” al cărei rol ar fi de a facilita anumite conexiuni sinaptice, cu determinarea de noi circuite în sistemul nervos. Grupările funcționale polare ale proteinelor cerebrale, în contact cu faza apoasă interstițială și împreună cu ionii vehiculați de aceasta, ar juca un rol esențial pentru menținerea oscilațiilor electrice caracteristice stării de conștiență, constituind substratul „memoriei efemere”. Un alt fenomen interesant în care proteinele cerebrale ar juca un rol important, cu perspectivă de aplicare în practica medicală este acela al anesteziei prin substanțe chimice inerte (argon, xenon). Aceste substanțe ar conduce la formarea unor microcristale, ce ar fi stabilizate prin

prezența proteinelor cerebrale. Formarea cristalelor ar modifica din impedența\* sistemului oscilator cerebral, care se reflectă atît în variațiile traseului electric, cît și în pierderea cunoștinței (ca efect al anesteziei generale).

Sinteza proteinelor nervoase (studiată prin metode chimice și radioizotopice) se consideră că este foarte intensă în substanța cenușie, mai mult decît în cea albă, realizîndu-se în special în substanța Nissl (ribozomi). S-a arătat că încorporarea aminoacizilor marcați este foarte activă; viteza de reînnoire a proteinelor corespunde celei aflate la nivelul ficatului. O parte din proteine rămîne în neuroni iar o altă ajunge în prelungiri (flux axonic). Această sinteză se desfășoară rapid în cursul dezvoltării embrionare fiind stimulată de tiroxină, efect ce nu se produce și în creierul adult datorită barierei hemato-meningee pentru tiroxină.

#### XVIII.2.4. ALȚI COMPUȘI AZOTAȚI

Substanța cerebrală conține glutatîon (80 mg% țesut), alte oligopeptide acide și fosfopeptide, cărora li s-ar putea atribui un rol în transportul activ prin membranele celulare. Dintre fosfopeptide, unele asociate prin legătură ester cu fosfoinozitidele formează așa-numitele fosfatide Folch-Pi, Le Baron.

##### XVIII.2.4.1. Aminoacizii

Se găsesc în țesutul nervos în cantitate apreciabilă. Cei liberi împreună cu cei ce intră în structurile proteice, reprezintă 40% din greutatea țesutului uscat, iar concentrația celor liberi este de opt ori mai mare decît cea plasmatică. Repartiția calitativă și cea cantitativă a unora dintre ei este caracteristică țesutului cerebral. Aminoacizii cei mai răspîndiți în creier sînt: acidul N-acetil-aspartic (care nu există în plasma normală), acidul glutamic, glutamina, acidul aspartic, taurina și acidul gama-aminobutiric, a cărui concentrație de 80  $\mu$ mol/g țesut este de trei sute de ori mai mare decît cea plasmatică. Acidul glutamic este sintetizat (local) prin transaminarea acidului  $\alpha$ -cetoglutaric, produs prin metabolizarea glucozei, sau provine din glutamina plasmatică, ce poate trece liberă prin bariera hematoencefalică. Merită subliniat faptul că acidul glutamic este singurul aminoacid care mărește respirația cerebrală, în prezența sau în absența glucozei. Transaminarea acidului glutamic se realizează, în special, cu acidul oxalacetic, fapt ce poate explica concentrația ridicată a acidului aspartic și a derivatului său N-acetil în țesutul cerebral. Decarboxilarea acidului glutamic produce acidul  $\gamma$ -aminobutiric (GABA), ambii jucînd un rol metabolic deosebit de important în țesutul nervos (care va fi expus mai departe).

\* Sistemul oscilator al curenților electrici cerebrali este asimilat cu un circuit electric alternativ. Impedanța este raportul dintre tensiunea eficace (la borne) și intensitatea eficace a curențului. Se măsoară în ohmi.



#### XVIII.2.4.2. Acizii nucleici și substanțele înrudite

Se găsesc în concentrație ridicată în țesutul nervos, aspect corelat cu sinteza foarte activă a proteinelor. Precursorii direcți ai ARN adică nucleotizii trifosforilați (NTP) se găsesc în concentrație crescută în creier (189  $\mu$ mol/100 g țesut proaspăt); în special în substanța cenușie unde raportul NTP/ARN este ridicat. Nucleozidtrifosfatul cel mai abundent este desigur ATP. În ordinea crescândă a concentrației se găsesc și nucleozid-difosfații, în special UDP unit cu diferite oze, și nucleozid monofosfați (AMP), în urme. Se observă creșterea concentrației nucleotizilor odată cu dezvoltarea filogenetică, precum și scăderea nivelului lor în hipoxie, fără a se putea da încă o explicație exactă acestor modificări.

#### XVIII.2.4.3. Nucleoproteinele

Rezultate din combinația acizilor nucleici cu proteinele, sînt în cea mai mare parte asociate în substanța cerebrală cu lipidele, sub formă de liponucleoproteine. Dezoxiribonucleoproteinele se găsesc desigur în nucleii celulelor nervoase, iar ribonucleoproteinele în nucleoli și citoplasmă. Conținutul în ARN a fost propus ca indicator al stării funcționale a neuronului. Cantitatea de ADN, deși redusă, este suficient pentru a asigura sinteza proteinelor și a m-ARN-ului corespunzător. Se fac — după cum s-a mai menționat — interesante ipoteze de corelare a memoriei de lungă durată cu acizii nucleici, ca substrat al acestora și al procesului de învățare, dar nu se cunosc precis și demonstrativ fapte indubitabile în această privință. Se încearcă să se stabilească o corespondență între memoria genetică, manifestată prin transmiterea mesajului genetic și fenomenul mintal de înregistrare a memoriei (pe termen lung). Deocamdată nu se poate găsi decît o corespondență analogică, formată mai ales de expresie și nu de substrat chimic. Experiențele de transmisie a memoriei (Ungar) prin injecție sau ingestie de ARN sînt criticabile și prin faptul că, atît acest acid, cît și alți nucleotizi nu pot traversa bariera hematoencefalică.

#### XVIII.2.5. GLUCIDELE

În țesutul nervos glucidele sînt reprezentate prin glucoză și glicogen. Ambele se găsesc în concentrație relativ mică. Glucoza reprezintă singurul substrat energetic utilizat în țesutul cerebral. De altfel, 2/3 din consumul de glucoză al organismului în repaus se realizează în creier. Cea mai mare parte din glucide (5/6) sînt oxidate aerob, cu o viteză foarte mare. Scăderea glicemiei sub o anumită limită afectează funcția cerebrală. Glucoza se găsește

sub formă de esteri fosforici. Glicogenul nu constituie o substanță de rezervă pentru țesutul nervos și — așa cum s-a apreciat — se află în concentrație foarte mică (70—130 mg%). Galactoza se găsește, de asemenea, în concentrație mică în nervi.

#### XVIII.2.6. ENZIMELE

Țesutul nervos conține toate enzimele implicate în principalele căi metabolice (capitolele VII—XI). Mențiune specială trebuie făcută pentru câteva din enzimele corelate cu activitatea specifică a țesutului nervos sau numai cu aceea a creierului.

*Glutamat-dehidrogenaza* și *glutamin-sintetaza* apar în concentrații mari în creier. Sinteza acetilcolinei și glutaminei necesită prezența de ATP și ATP-ază, care desface una din legăturile fosfat-macroergice. Cea mai ridicată activitate ATP-azică este în neuroglie. În neuroni, 25% din această activitate este localizată în membrana celulară.

Ca organ mare consumator de oxigen, creierul posedă un puternic aparat mitocondrial, bogat în sistem succinoxidazic. Substanța cenușie are o activitate respiratorie de 4—5 ori mai mare decât a substanței albe sau a nervilor periferici. Celulele nervoase conțin ARN-polimerază, foarte activă, într-o concentrație care depășește pe aceea a altor țesuturi. De asemenea, colinesteraza și colinacetilaza, sînt prezente și strîns corelate cu activitatea funcțională a țesutului. Creierul conține și o glutation-reductază, foarte activă, ca și amilaza (care se consideră că ar hidroliza glicogenul pînă la maltoză). Carbonicanhidraza prezintă în creier ar avea un rol în reglarea echilibrului acido-bazic.

#### XVIII.2.7. VITAMINELE

Vitaminele corelate cu metabolismul sistemului nervos central sînt: tiamina, acidul nicotinic, vitamina B<sub>6</sub>, vitamina B<sub>12</sub>, acidul pantotenic și riboflavina (cap. III). Mențiune specială se poate face pentru piridoxină, vitamina B<sub>6</sub>, coenzimă implicată în metabolismul acidului glutamic, substanță cu funcție capitală în țesutul cerebral. De asemenea acidul pantotenic — component structural al coenzimei A — ia parte la sinteza acetilcolinei.

#### XVIII.2.8. MEDIATORII CHIMICI

Aceștia sînt substanțe care „mediază” transferul influxului nervos, de la un neuron la altul. După liberarea lor la nivelul terminațiilor nervoase și al membranelor sinaptice, aceste substanțe difuzează către membrana postsinaptică (fig. XVIII.2). Liberarea mediatorilor se face prin emiocitoză (revărsare), posibil și prin difuziune, în interstițiul sinaptic și necesită pre-



zența ionilor de  $\text{Ca}^{++}$ . Pe fiecare impuls se liberează oscilant  $10^7$  molecule, care se leagă probabil de receptori (necunoscuți încă) de pe membrana postsinaptică. După trecerea impulsului mediatorii sînt degradați enzimatic în interstițiu. Acțiunea mediatorilor este supusă anumitor reguli (J. P. Schade, 1969), și anume:

- toate terminațiile presinaptice ale unui neuron conțin același mediator;

- doi neuroni în circuit (unul după altul) pot să conțină mediatori diferiți;

- mediatorul eliberat în timpul excitației în spațiul interstițiului sinaptic, este descompus repede prin acțiuni enzimatic, localizate în formații pre- sau postsinaptice sau chiar în peretele interstițiului. După cum se știe, se cunosc sinapse centrale în creier și sinapse periferice. O sinapsă de tip special este aceea dintre nervii motori și mușchi. Observațiile care au condus la cunoștințele referitoare la mecanismul sinaptic, se bazează mai ales pe modele simple și studii făcute asupra sinapselor periferice.

Din categoria mediatorilor chimici fac parte următoarele substanțe: acetilcolina, adrenalina, noradrenalina, dopamina, aminele biogene (serotonina și histamina), aminoacizi ca: glicina, glutamina, acidul  $\gamma$ -aminobutiric (GABA). Modul de intervenție al semnalelor transmise prin mediatori nu este încă complet elucidat.

În sinapsele periferice sînt reprezentate două sisteme, caracterizate prin natura mediatorilor chimici:

- transmisia mediată prin acetilcolină sau transmisia colinergică;

- transmisia mediată prin noradrenalină, denumită adrenergică.

În sistemul nervos central acționează și ceilalți mediatori: dopamina, serotonina, histamina, GABA, glicocolul și glutamatul prezenți în creier nu numai ca metaboliți intermediari, ci și ca mediatori.

### XVIII.2.8.1. Acetilcolina

Este prima substanță căreia i s-a atribuit calitatea de mediator chimic. Neuronii ale căror terminații liberează acetilcolină sînt denumiți colinergici. Acetilcolina este liberată în urma unui stimul nervos, la nivelul terminațiilor nervoase preganglionare ale sistemului nervos simpatice și al celui parasimpatice, la nivelul fibrelor postganglionare parasimpatice și în anumite cazuri și ale celor simpatice. Se liberează de asemenea și la nivelul terminațiilor nervilor motori ai scheletului. Ea există în țesutul nervos sub formă inactivă legată de o proteină, în vezicule sau chiar în interiorul membranei excitabile după Nachmansson. Din momentul trecerii sale din forma inactivă (legată de proteină) în starea activă urmată de liberarea sa, acetilcolina este hidrolizată rapid prin acțiunea acetilcolinesterazei. Aproape simultan ea este resintetizată prin acțiunea colinacetilazei (sau a colinacetat-transferazei), în prezență de ATP,  $\text{Mg}^{++}$  și acetyl-CoA (agentul de acetilare al colinei).

### XVIII.2.8.2. L-noradrenalina

Este mediatorul chimic produs de terminațiile neuronilor adrenergici. Împreună cu adrenalina și dopamina formează grupul de catecolamine, derivate din tirozină. Noradrenalina este inactivată pe loc sub acțiunea monoaminoxidazei (MAO) sau prin reacții de metilare. Prin acest ultim mecanism, în prezența S-adenozil-metioninei și a catechol-O-metiltransferazei, noradrenalina produce normetanferină și acid vanilmandelic. Acești compuși metoxilați, se înrudesc cu mescalina (trimetoxi-3,4,5-feniletilena) substanță psihomimetică halucinantă. Observația a determinat ipoteza că anumite afecțiuni mintale (schizofrenia) ar putea fi corelate cu exacerbarea procesului de O-metilare. În urina schizofrenicilor se găsește dimetoxi-3,4-feniletilamină.

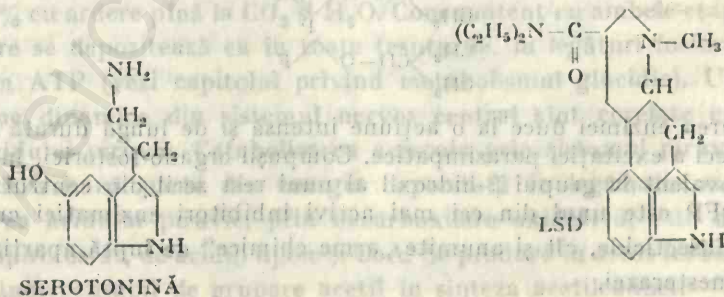
În biosinteza adrenalinei, dopamina reprezintă precursorul său nemijlocit. Inactivarea dopaminei se face prin MAO și COMT (catechol-O-metiltransferaza).

### XVIII.2.8.3. Dopamina

Funcționează ca neurotransmițător în zonele din creier, în care se găsește o cantitate foarte mică de dopamin-β-hidroxilază. Acțiunea se pare legată de transmisia excitației în neuronii motori. Scăderea concentrației dopaminei în putamen și nucleul caudat din creier, este un „semn biochimic” important în boala Parkinson. Tratamentul cu L-dopa, aplicabil în această boală, se bazează pe constatarea că această substanță traversează bariere hematoencefalică și ajunsă în creier determină creșterea nivelului de dopamină, favorizând dispariția manifestărilor parkinsoniene.

### XVIII.2.8.4. Serotonina

Se găsește în anumite regiuni ale creierului, anume în hipotalamus (Aree Postrema), în substanța cenușie centrală. Distribuția și variațiile sale în creier sînt apropiate de acelea ale adrenalinei. Rolul său nu este bine cunoscut. Nivelul substanței scade în sistemul nervos central sub acțiunea medicamentelor depresive, și crește în administrarea antidepresivelor (iproniazida și alți inhibitori ai monoaminoxidazei). Puternicul drog halucinant „LSD” (amida acidului lisergic) are o structură parțial asemănătoare cu aceea a serotoninei, după cum reiese din formulele:





## XVIII.2.8.5. GABA și alți aminoacizi

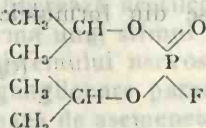
GABA (acid  $\gamma$ -aminobutirie) este un neuromediator al sistemului nervos central, sintetizat printr-o reacție piridoxalfosfat dependentă, din glutamat. După natura acțiunii lor, în sistemul nervos central mediatorii chimici pot fi împărțiți în două grupe: excitatori și inhibitori. Catecholaminele sint. prototip de mediator de excitație pe cind GABA este prototip de mediator de inhibiție.

Glutamatul este excitator în scoarța cerebrală și măduva spinării iar glicina este inhibitor al sinapselor interneuronale din măduvă. Variațiile de concentrație ale mediatorilor au importanță pentru ritmicitatea dintre somn și starea de veghe.

## XVIII.3. ELEMENTE DE FARMACOLOGIE BIOCHIMICĂ A MEDIATORILOR CHIMICI

Numeroasele procese ce se petrec în transmisia chimică a influxului nervos alcătuiesc un domeniu de mare perspectivă al farmacologiei biochimice. Cîteva exemple ilustrează această afirmație. Utilizarea analogilor sintetici de substraturi duc la inhibiții dirijate:  $\alpha$ -metiltirozina inhibă formarea catecholaminelor iar p-cloranolina pe aceea a serotoninei. O modalitate de creștere a acțiunii unui mediator este inhibiția procesului său de distrugere la nivelul sinapsei. În acest mod acționează inhibitorii monoaminoxidazei. Un alt punct de intervenție este la nivelul veziculelor de depozitare sinaptice. Rezerpina, alcaloid utilizat în tratamentul hipertensiunii arteriale, determină golirea veziculelor sinaptice de conținutul lor în serotonină, noradrenalină, dopamină. Scăderea noradrenalinei în creier determină o stare depresivă. Stările depresive se tratează în schimb prin inhibitori ai MAO. Se poate acționa și asupra receptorilor pentru mediatorii, cu scăderea excitației (ex. fenotiazină) sau creșterea ei (ex. amfetamină).

O inhibare ireversibilă a acetilcolinesterazei se obține prin alchil-fosfați (ex. diizopropilfluorofosfatul):



Inhibarea enzimei duce la o acțiune intensă și de lungă durată a acetilcolinei și deci a excitației parasimpatice. Compușii organo-fosforici, în general, se leagă covalent la grupul  $\beta$ -hidroxil al unui rest seril din centrul activ al enzimei. DFP este unul din cei mai activi inhibitori enzimatici cunoscuți. O serie de insecticide, cît și anumite „arme chimice” de luptă aparțin inhibitorilor colinesterazei.

*Atropina* este folosită ca antidot în intoxicațiile cu alchilfosfați. Acest alcaloid blochează acțiunea acetilcolinei la transmisia din neuronul postganglionar în organul efector (musculatura netedă) dar nu și transmisia din neuronul preganglionar către cel postganglionar. Se cunosc și halucinogene, derivați de atropină, care blochează acțiunea acetilcolinei la capetele terminale ale fibrelor postganglionare.

#### XVIII.4. METABOLISMUL SISTEMULUI NERVOS

Procesele energetice respiratorii sînt preponderente în sistemul nervos. Creierul consumă 20—25% din totalul de oxigen utilizat de organismul întreg în stare de repaus. Consumul de oxigen pe gram de țesut cerebral este de 20 de ori mai mare decît al mușchiului. Substanța cenușie are un consum de oxigen mai intens decît substanța albă. Nevoia de oxigen a nervilor este doar cu puțin mai mică decît a creierului. Coeficientul respirator al creierului este aproximativ 1, corespunzător unui consum aproape exclusiv de hidrați de carbon. De altfel, glucoza este cel mai important substrat energetic al creierului, glucozo-dependența fiind o caracteristică metabolică a creierului. Hipoglicemia tulbură funcțiile cerebrale pînă la pierderea cunoștinței, cu posibilitatea instalării unor disfuncții ireversibile. Preluarea glucozei este practic independentă de insulină și reglată prin oferta arterială de glucoză. Diferența arteriovenoasă a glucozei — în condiții normale — este de 10,3 mg/100 ml sînge. Din această cantitate 8,9 mg glucoză sînt degradate pînă la  $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2\text{O}$  iar restul pînă la lactat (1,2 mg/100 ml sînge) și piruvat (0,2 mg/100 ml sînge).

În condiții de infometare, creierul începe să se comporte ca mușchii scheletici, adică utilizează ca substantiv energetic, corpii cetonici. Concomitent scade preluarea glucozei din sînge și majoritatea din cea existentă în creier (63%) este arsă pe calea glicolică anaerobă.

Căile de degradare ale glucozei în creier trec prin etapa glicolică Embden-Meyerhoff 15% cu formare de acid lactic și prin etapa ciclului acizilor tricarboxilici, 85% cu ardere pînă la  $\text{CO}_2$  și  $\text{H}_2\text{O}$ . Concomitent cu ambele etape, energia de oxidare se depozitează ca în toate țesuturile, în legături fosforice macroergice din ATP (vezi capitolul privind metabolismul glucidic). Un grup de mecanisme dinamice din sistemul nervos central sînt corelate cu metabolismul acidului piruvic. Catabolizarea acestuia prin sistemul piruvat-oxidază furnizează o bună parte din energia depozitată în legăturile macroergice. Degradarea acidului piruvic, prin decarboxilare oxidativă, este dependentă de tiaminpirofosfat, de acidul lipoic și CoA. Se produce în acest fel acetyl-CoA, donator indispensabil de grupare acetyl în sinteza acetilcolinei.



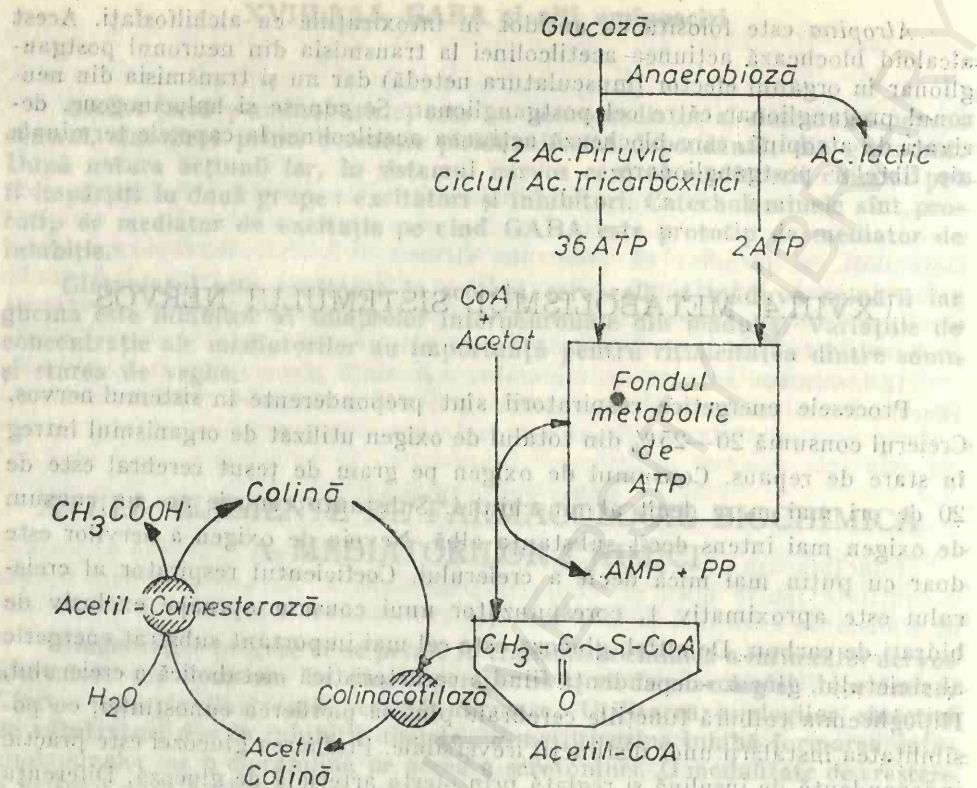


Fig. XVIII.3 — Sinteza și degradarea acetilcolinei.

Deosebit de importante pentru funcționalitatea sistemului nervos sînt următoarele trei aspecte ale metabolismului azotat:

#### XVIII.4.1. SINTEZA ȘI DEGRADAREA ACETILCOLINEI

Accasta este redată schematic în fig. XVIII-3. Acetilcolinesteraza este prezentă nu numai la nivelul sinapselor, ci este răspîdită în întreaga fibră neryoasă. Este fundamental deosebită de pseudocolinesteraza plasmatică, pentru explorarea sindromului hepatopriv. Desfacerea acetilcolinei este un proces exergonic iar sinteza prin colinacetilază este endergonică. Ea nu poate folosi decît acetatul activat (acetyl~CoA) ce se formează printr-o reacție tiokinazică, ATP dependentă. Aceste caracteristici reacționale au condus pe Nachmanson la elaborarea teoriei chimice a transmisiei influxului nervos (prezentată mai departe) prin opoziție cu teoria neuromorală.

Acidul  $\gamma$ -aminobutiric este sintetizat printr-o reacție de decarboxilare a L-glutamatului, piridoxalfosfat dependentă. Enzima există în două forme: una preponderentă în neuroni și celulele gliale, iar cealaltă în diferite țesuturi, în special în corticala renală. GABA este transformat în succinil semi-aldehidă, prin acțiunea unei transaminaze specifice. Succinil-semialdehida este oxidată ulterior în acid dicarboxilic (succinic). Deoarece prin aceste reacții este ocolită reacția intramitochondrială a  $\alpha$ -cetoaglutaratdehidrogenazei, mecanismul este denumit „șuntul GABA”. Semnificația biologică a acestuia nu este încă elucidată. Este acceptat însă faptul că GABA funcționează ca mediator chimic la anumite sinapse inhibitorii, în special în domeniul ganglionilor bazali (fig. XVIII.4).

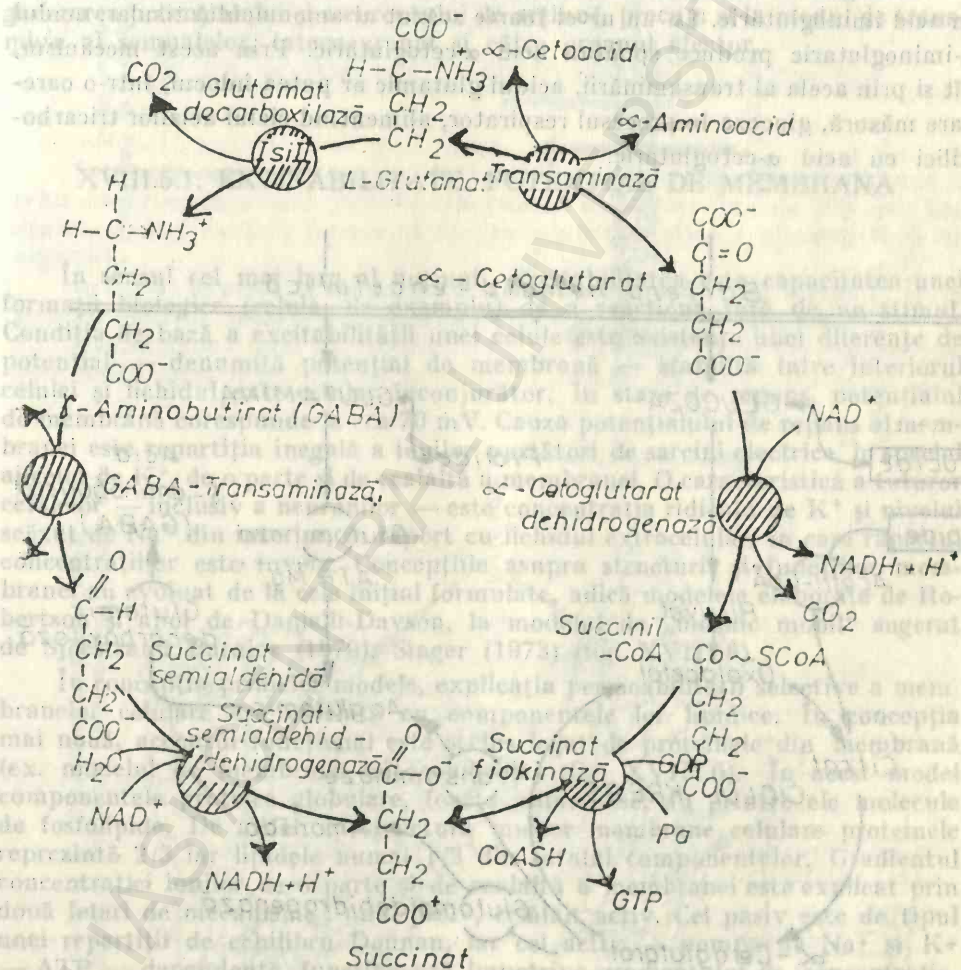


Fig. XVIII.4 — Șuntul GABA.



### XVIII.4.3. METABOLISMUL ACIDULUI GLUTAMIC ȘI AL GLUTAMINEI

Acidul glutamic este un compus extrem de reactiv, care trecut sub formă de glutamină (componentă de rezervă mai puțin reactivă) este implicat într-un mecanism de reglare a proceselor metabolice în țesutul cerebral. În creier sunt prezente și active atât sistemele enzimatice necesare sintezei și degradării acestui aminoacid, cât și acelea ce pot asigura interacțiunile sale metabolice cu glucidele, lipidele și protidele. Transformările sunt redată în schema XVIII.5.

Glutamat dehidrogenaza din țesutul cerebral transformă acidul glutamic în acid iminoglutaric. La un nivel foarte scăzut al amoniacului tisular, acidul  $\alpha$ -iminoglutaric produce spontan acid  $\alpha$ -cetoglutaric. Prin acest mecanism, cât și prin acela al transaminării, acidul glutamic ar putea înlocui, într-o oarecare măsură, glucoza în procesul respirator, alimentând ciclul acizilor tricarboxilici cu acid  $\alpha$ -cetoglutaric.

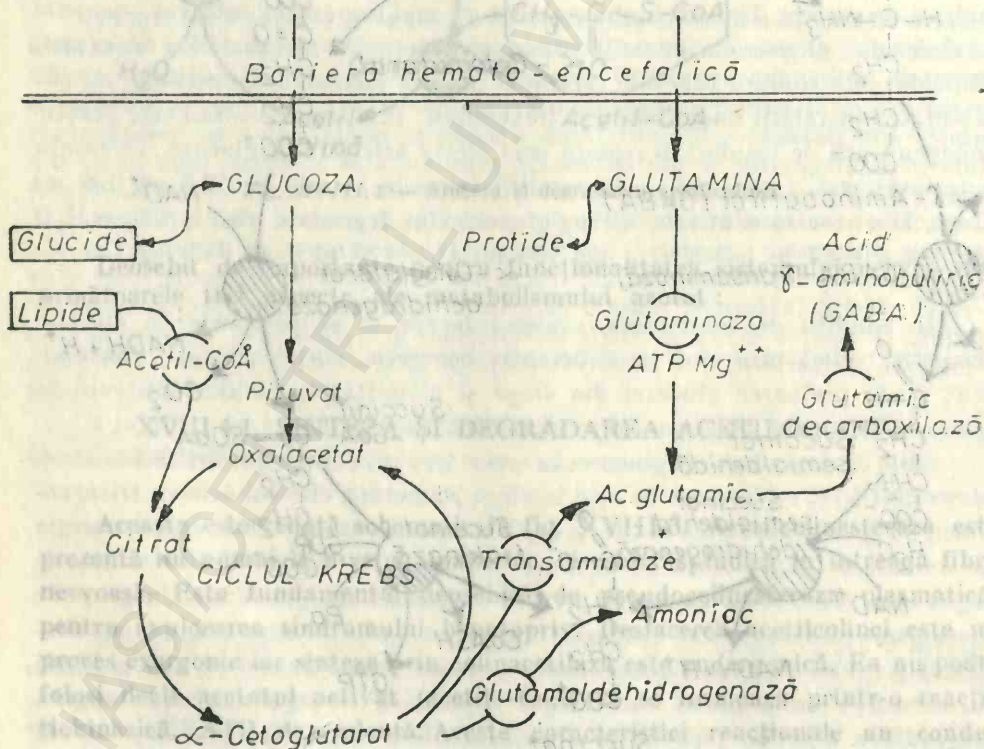
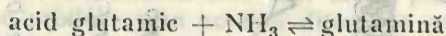


Fig. XVIII.5 — Metabolismul acidului glutamic în creier.

Sistemul glutamină-acid glutamic joacă un rol deosebit de important pentru reglarea metabolismului amoniacului (toxic nervos) în sistemul cerebral, conform reacției:



## XVIII.5. TRANSMISIA IMPULSULUI NERVOS

Activitatea sistemului nervos este asociată, alături de fenomene electrice, și cu procese biochimice, interdependente. Sînt aspecte de o deosebită importanță ce se referă la excitabilitate, membrane excitabile — în general — generarea potențialului și a curentului de acțiune, precum și la modul de transmisie al semnalelor, interneuronal și către organul efector.

### XVIII.5.1. EXCITABILITATE. POTENȚIAL DE MEMBRANĂ

În sensul cel mai larg al noțiunii, excitabilitatea este capacitatea unei formații biologice (celula, de exemplu) de a reacționa față de un stimul. Condiția de bază a excitabilității unei celule este existența unei diferențe de potențial — denumită potențial de membrană — stabilită între interiorul celulei și lichidul extracelular înconjurător. În stare de repaus, potențialul de membrană corespunde la cea 70 mV. Cauza potențialului de repaus al membranei este repartiția inegală a ionilor purtători de sarcini electrice, în special ai celor de  $\text{K}^+$ , de o parte și de cealaltă a membranei. O caracteristică a tuturor celulelor — inclusiv a neuronilor — este concentrația ridicată de  $\text{K}^+$  și nivelul scăzut de  $\text{Na}^+$  din interior, în raport cu lichidul extracelular, în care raportul concentrațiilor este invers. Concepțiile asupra structurii și funcțiilor membranei au evoluat de la cele inițial formulate, adică modelele elaborate de Robertson și apoi de Danielli-Davson, la modelul de „mozaic mobil” sugerat de Sjöstrand Barajas (1970), Singer (1973) (fig. XVIII.6).

În concepția primelor modele, explicația permeabilității selective a membranelor celulare era corelată cu componentele lor lipidice. În concepția mai nouă, accentul funcțional este strins legat de proteinele din membrană (ex. modelul de membrană mitocondrială) (fig. XVIII.6). În acest model componentele proteice globulare, foarte numeroase, au printre ele molecule de fosfolipide. De altfel, în structura multor membrane celulare proteinele reprezintă 2/3 iar lipidele numai 1/3 din totalul componentelor. Gradientul concentrației ionilor de o parte și de cealaltă a membranei este explicat prin două feluri de mecanisme: unul pasiv, celălalt activ. Cel pasiv este de tipul unei repartiții de echilibru Donnan, iar cel activ — pompa de  $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$  — ATP — dependentă, funcționează împotriva gradientului de concentrație, transportînd  $\text{K}^+$  în interiorul celulei și  $\text{Na}^+$  în spațiul extracelular (fig. XVIII.7)



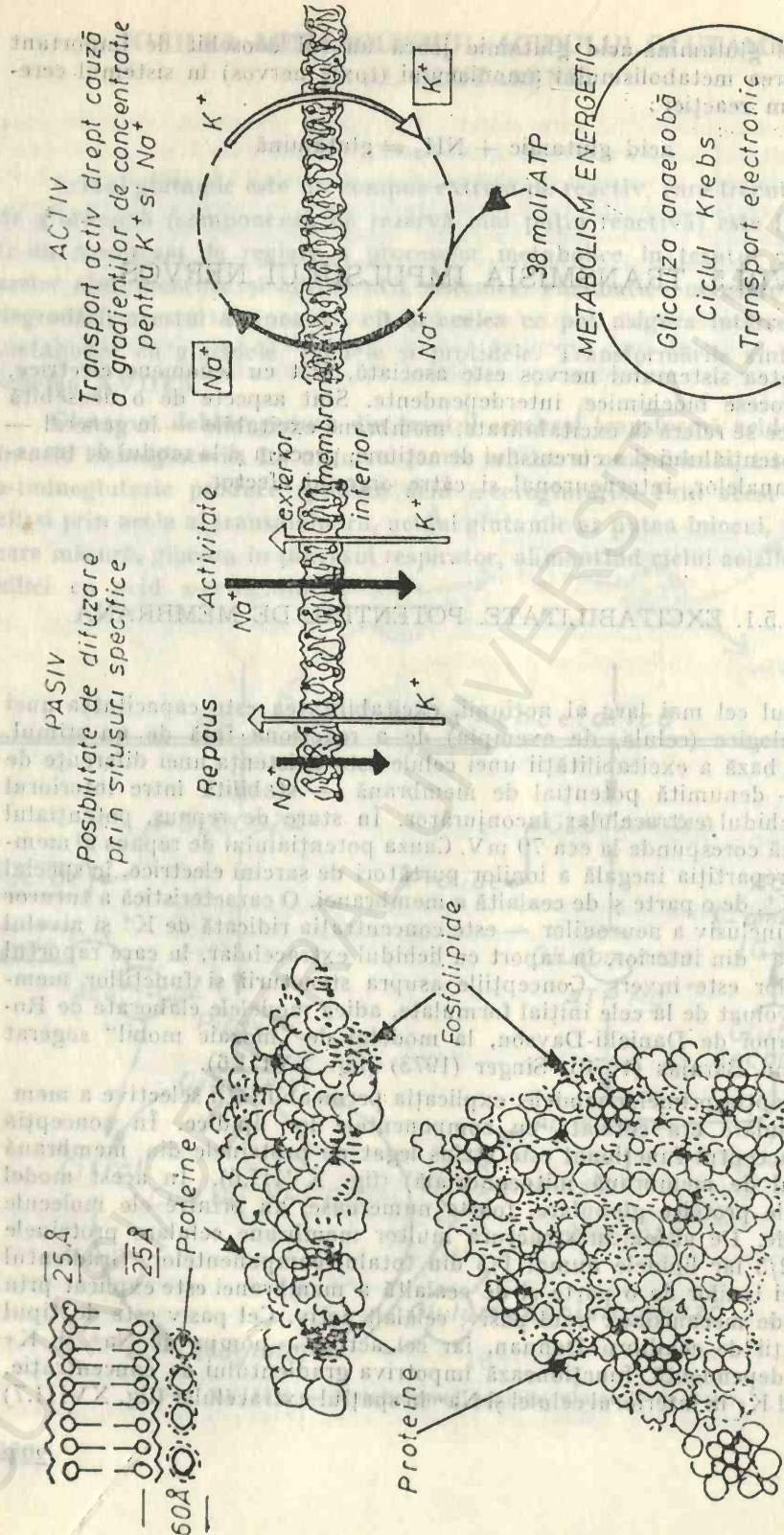


Fig. XVIII.6 — Model de membrană mitocondrială de tip „mosaic fluid” (sugărat de Sjostrand, Barajas, Singer).

Fig. XVIII.7 — Posibilități de transport ionic activ și pasiv prin membrane excitate (adaptare după Stampfl).

Membranele excitabile conțin anumite situsuri specifice sau „pori polari” (canale de trecere), prin care în anumite condiții pot trece ionii de  $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$ . Deoarece în membrana neexcitată sînt mai mulți pori deschiși pentru  $\text{K}^+$  decît pentru  $\text{Na}^+$ , se produce prin această difuziune selectivă, de la interior către exterior, un potențial de difuziune la nivelul membranei. Interiorul membranei se încarcă negativ față de exterior, încercat pozitiv, deoarece ionii nedifuzabili încarcă negativ (anioni proteici, esterii fosforici) rămîn în interior. În stare de repaus deci, membrana excitabilă este încărcată pozitiv (la exterior). Membrana celulară și fibrele nervoase — ca orice membrană excitabilă — prezintă o distribuție ionică inegală, în sensul descris, care condiționat fiind de permeabilitatea mai mare a membranei, în stare de repaus, pentru potasiu decît pentru sodiu, determină diferența de potențial dintre interior și exterior.

### XVIII.5.2. POTENȚIALUL ȘI CURENTUL DE ACȚIUNE

Sub acțiunea unui sistem de excitație permeabilitatea membranei se schimbă brusc în sensul creșterii sale pentru ionul  $\text{Na}^+$  (cea de 500 ori). Este declanșat un curent de intrare al  $\text{Na}^+$  în celule fără aflux concomitent de ioni negativi.

În acest moment al excitației se ajunge la o inversare a semnului potențialului electric, membrana încărcîndu-se negativ (depolarizare).

Prin acțiunea unui stimul (excitație) la suprafața fibrei nervoase se produce modificarea descrisă a permeabilității membranei pentru cationi și depo-

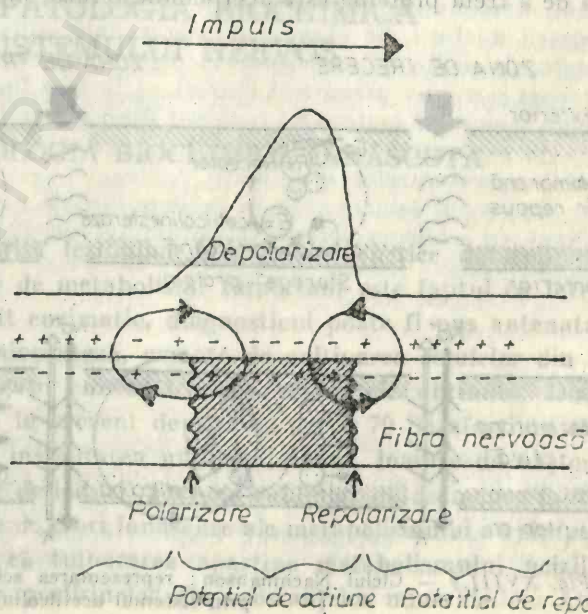


Fig. XVIII.8 — Fenomene electrice în propagarea impulsului nervos (adaptare după Hodgkin).



larizarea menționată, cu inversarea semnului electric. Între zona activă, devenită negativă prin depolarizarea membranei nervului și regiunea imediat adiacentă, inactivă, încă polarizată (deci încărcată pozitiv) se naște o diferență de potențial și un curent electric ce se manifestă mai departe ca o undă de depolarizare ce se propagă din aproape în aproape (fig. XVIII.8).

### XVIII.5.3. CAUZELE MODIFICĂRII PERMEABILITĂȚII MEMBRANEI

Cauzele ce produc modificarea permeabilității selective a membranei neuronale nu sînt încă complet clarificate și nu este încă stabilită o poziție unanim recunoscută și riguros dovedită în privința lor. Nachmanson propune o ipoteză prin care atribuie acetilcolinei un rol important în geneza fenomenului de modificare a permeabilității selective. Această concepție postulează că acetilcolina acționează chiar în interiorul membranei excitabile. Căldura produsă și absorbită în timpul activității electrice impune — fără alternativă — concluzia că schimbările permeabilității ionice sînt efectuate prin reacții chimice.

În aceste reacții corelate cu activitatea prin care acetilcolina intervine în deschiderea „porilor polari” (fig. XVIII.9) sînt implicate trei feluri de proteine. Situația pare să se prezinte în modul următor:

a) în stare de repaus acetilcolina este legată de proteina „S” (storage) fiind depozitată astfel, în formă legată, inactivă. O a doua proteină (R) funcționează ca receptor al acetilcolinei după liberarea sa din forma precedentă. Cea de a treia proteină este acetilcolinesteraza, hidrolaza specifică ce descom-

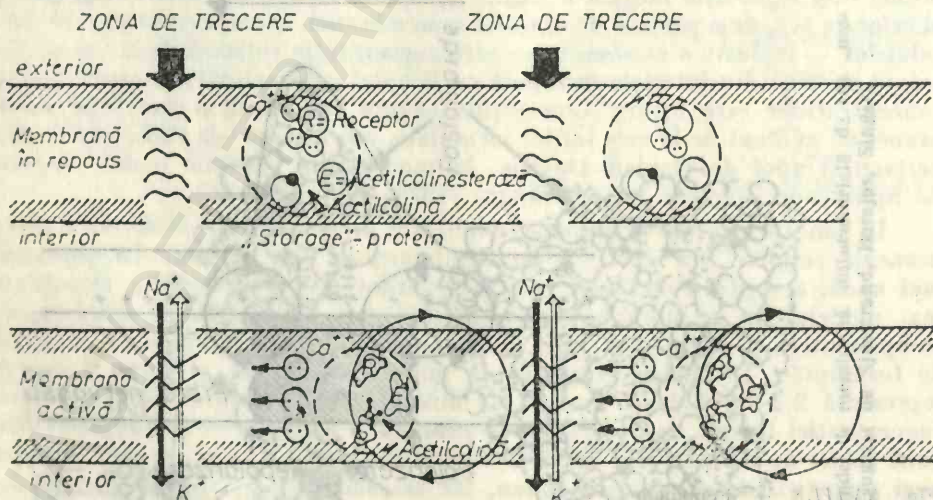


Fig. XVIII.9 — Ciclul Nachmanson; reprezentarea schematică a reacțiilor generate prin sistemul acetilcolină.

pune mediatorul acetilcolină. Acest complex proteic este în legătură directă cu o zonă din membrana excitabilă, unde sînt situați „porii polari” ce pot fi traversați de ioni în timpul activității.

b) *În stare de activitate*, excitația disociază acetilcolina de proteina de rezervă „S” și o transferă receptorului „R”. Reacția provoacă o schimbare conformațională a proteinei R probabil prin acțiune allosterică. Ioni  $\text{Ca}^{++}$  (legați de R în stare de repaus) sînt eliberați și acționează asupra componentelor din zona de trecere (porii polari) producînd modificări conformaționale ale fosfolipidelor, lipoproteinelor și altor elemente. Aceste modificări permit mișcările ionice. Pentru o moleculă de acetilcolină activată, cea 20 000—30 000 ioni traversează membrana în ambele direcții. Acetilcolina acționează ca un semnal. Datorită cunoștințelor incomplete asupra structurii moleculare a membranelor, nu poate fi elaborată în prezent o teorie cantitativă a evenimentelor moleculare ale bioelectricității. Nachmanson sugerează un model „integral” centrat de ideea unităților funcționale bazale de excitație, ce ar permite interpretarea mai multor elemente de bioelectricitate ale țesutului nervos: perioada de latență, pragul de excitație, inițierea influxului, răspunsul gradat și răspunsul „tot sau nimic”. În structura unității bazale, în jurul unei zone de trecere s-ar grupa 6—10 ansambluri ale proteinelor ce intervin la diferite etape ale activității acetilcolinei. Distanța între unități s-ar putea evalua la 1 400 Å, pe baza studiilor experimentale făcute asupra membranei din electrolplăcile de tipar electric. Elaborarea modelului de membrană excitabilă a lui Nachmanson, cu integrarea datelor de biochimie și biofizică, reprezintă un efort pentru fundamentarea unei teorii cantitative a excitației la nivel molecular.

## XVIII.6. PATOLOGIA BIOCHIMICĂ A SISTEMULUI NERVOS

### XVIII.6.1. PATOLOGIA BIOCHIMICĂ ÎNNĂSCUTĂ

Această patologie datorită leziunilor biochimice genetice determinate, este prezentată în capitolele de metabolism. Important este faptul că într-o serie de afecțiuni prin deficit enzimatic, diagnosticul poate fi pus antenatal, în perioada fetală, prin amniocenteză, urmată de cultivarea celulelor din lichidul amniotic, cu investigații enzimatic pe preparatele obținute. Diagnosticul prenatal ar permite în prezent depistarea a cea 70 de afecțiuni metabolice și, în unele cazuri, instaurarea unui tratament, înainte de naștere, prin administrarea factorilor deficitari. Trebuie subliniat de asemenea faptul că un sfert din bolile cauzate de erori innăscute ale metabolismului au simptomatologie neuropsihică, fie că tulburarea aparține metabolismului acizilor aminați, lipidelor, glucidelor, porfirinelor, fie substanțelor minerale.



## XVIII.6.2.1. Demielinizarea

Membrana mielinică derivă din elementele satelite, celulele Schwann, în nervul periferic și echivalentul lor din sistemul nervos central, oligodendroglia. Fenomenul morfologic al demielinizării este strins legat de sinteza cheratinei și proteolipidelor. O etapă importantă a demielinizării este formarea tecii de mielină prin organizarea rețelelor structurale de neurocheratină și proteolipide, cu încorporarea lipidelor specifice (sfingomielină, în special). În demielinizare se produce o scădere a tuturor constituenților specifici ai tecii de mielină.

## XVIII.6.2.2. Degenerescența walleriană

Urmează secționarea unui nerv, ceea ce produce distrugerea tecii de mielină în segmentul distal, fenomenul desfășurându-se în trei etape: a) scăderea concentrației lipidelor cu creșterea concentrației relative a cerebrozidelor. Odată cu diminuarea conductibilității impulsului nervos, consumul de oxigen este scăzut, iar acetilcolinesteraza și fosfomonoesteraza sînt pe cale de dispariție. În același sens variază concentrația coenzimelor tiaminpirofosfat și NAD-dependente, precum și încorporarea acetatului marcat cu  $^{14}\text{C}$ . b) Producerea unei activități lipolitice intense — cu dispariția în același ritm a colesterolului și a sfingomielinei. Se constată prezența colesterolului neesterificat iar inozitolul, etanolamina, plasmalogenele și fosfatidilserina apar ca produși ai dezintegrării mielinei. Se observă creșterea unor activități enzimatice (fosfomonoesterazele acide, 5'-nucleotidaza,  $\beta$ -glucuronidaza), a consumului de oxigen, precum și a unor precursori lipidici. c) În faza finală acizii nucleici și enzimele dispar complet, materialul rezidual fiind alcătuit din proteoglicani (colagen).

În segmentul proximal crește concentrația de ADN, ARN, și activitatea fosfomonoesterazelor alcaline și acide.

În corpurile celulare doza de scădere inițială a conținutului în ARN, concomitent cu scăderea activității sistemului succinoxidazic, produce o creștere a concentrației acestui acid nucleic precum și a proteinelor și lipidelor.

## XVIII.6.2.3. Polinevritele

Patologia biochimică a nervului cuprinde modificările moleculare ce se produc în cadrul polinevritelor de diferite cauze: carențiale (vitamina  $\text{B}_6$ , acid nicotinic, în pelagră și alcoolism cu perturbarea sistemelor enzimatic NAD și NADP-dependente), disproteinemice (boala Waldenström), dislipidemice prin tulburarea metabolismului porfirinic, prin acțiuni toxice datorită metalelor grele (blocarea grupărilor tiolice).

#### XVIII.6.2.4. Biochimia stărilor amnezice

Datele existente în acest domeniu sînt foarte puține și deduse din mecanismul biochimic al memoriei și învățării, în care se cunoaște, ca substrat molecular al procesului amnezic, un ARN mesager. Cercelările lui Hyden au dus la concluzia că electrogeneza și sinteza de ARN sînt proprietățile cele mai caracteristice neuronului. În procesul de învățare și de condiționare, concentrația m-ARN-ului nuclear crește. Diminuarea memoriei (pînă la amnezie) ar putea fi determinată de scăderea conținutului de ARN, ca și de creșterea frecvenței erorilor de transmisie și translație a informației de pe molecula de ADN neuronal. După Laborit (1969) și Walley (1965) una din aminele biogene, 5-HT ar juca un rol important în procesele de memorizare și de pierdere a acestei facultăți. Majoritatea structurilor cerebrale implicate în fenomenul memoriei (hipocampus, nucleii striati, paleocortexul) conțin cantități apreciabile de 5-HT.

#### XVIII.6.2.5. Biochimia stărilor comatoase

De cauze endo- sau exogenă, starea comatoasă este caracterizată prin pierderea cunoștinței, a motilității și sensibilității, asociată cu tulburări ale mecanismelor de reglare a vieții vegetative. Comele provocate prin perturbări ale metabolismului cerebral pot fi grupate în trei categorii, în funcție de patogenie : a) prin aport insuficient de glucoză sau hipoglicemie, de cauze diverse ; b) prin aport insuficient de oxigen, adică prin hipoxie hipoxemică sau prin hipoxie hemodinamică ; c) prin tulburări ale activității metabolice cerebrale, prin intoxicații endogene sau exogene.

*Come prin intoxicații endogene. Comele hepatice.* În cursul hepatopatiilor acute instalarea stării comatoase are la bază sindromul hepatopriv. Se produce prin tulburări enzimatice complexe, interesînd în mod special metabolismul oxidativ hepatic. În hepatopatiile cronice coma este rezultatul pătrunderii în circulația generală a unor substanțe toxice de origine intestinală, ce nu sînt detoxificate în ficat : amoniac, metionină, anumite amine (cadaverină, putresceină). Hiperamonemia este factorul esențial în determinismul tulburărilor neurologice din encefalopatia hepatică. O corelație fidelă există între intensitatea stării hepatice și concentrația  $\text{NH}_3$  din l.c.r. Mecanismele de detoxifiere a amoniacului sînt : ciclul ureogenetic Krebs-Henseleit (în ficat) și sistemul acid glutamic-glutamină, ce se desfășoară preponderent în celulele nervoase și musculare.

*Coma diabetică, acido-cetozică,* este o complicație a diabetului decompensat, caracterizată prin acumularea de corpi cetonici a căror producere crește, ca urmare a intensificării gluconeogenezei (din lipide mai ales). Acidoza metabolică determinată prin acumularea de corpi cetonici se asociază cu scăderea mare a rezervei alcaline și a pHi-ului plasmatic, precum și cu tulburări hidroelectrolitice ce determină simptomele neurologice. O altă interpretare a acestora este legată de exagerarea derivării metabolismului oxidativ pe calea șuntului GABA.



**Coma uremică.** În această stare celula nervoasă nu poate utiliza glucoza, oxigenul, al căror aport este de altfel normal. Alterarea barierei hematoencefalice facilitează pătrunderea unor substanțe toxice în sistemul nervos central, fenomenele neuropsihice fiind determinate de gradul de impregnare al centrilor nervoși cu aceste substanțe. Concentrația ridicată de uree — substanță netoxică — pare să joace un rol în mărirea permeabilității celulare pentru pătrunderea substanțelor toxice, printre care s-ar putea socoti următoarele: substanțe aromatice (scatol, indol), polipeptidele, guanidina, etanolaminele, dimetilalanina. Hipercatecolaminemia ar cauza anxietatea și starea de agitație, iar excesul de acetona și butilenglicol ar exercita acțiunea narcotică.

**Coma hipercapnică,** produsă prin insuficiență respiratorie în cursul afecțiunilor bronhopulmonare, la care se supraadaugă o infecție. Hipercapnia și hipoxia cerebrală provoacă vasodilatație, edem cerebral, stază papilară. Biochimic este caracterizată, pe lângă creșterea de  $\text{CO}_2$ , prin stare de acidoză, cu scădere de pH și a rezervei alcaline. Intrarea și ieșirea din starea de comă se poate produce alternativ. Oxigenoterapia trebuie aplicată cu prudență, deoarece înlăturarea hipoxiei poate determina reducerea mișcărilor respiratorii și intensificarea acidozei.

— **Come prin intoxicații exogene.** **Coma barbiturică** are la bază atât efectul toxic direct asupra celulelor corticale și a celor din sistemul activator ascendent, deprimarea centrului respirator cu hipercapnia consecutivă, cât și scăderea debitului sanguin și a consumului de oxigen cerebral. Sindromul biochimic este caracterizat prin inhibarea reversibilă a oxidării glucozei și piruvatului, decuplarea fosforilării oxidative prin inhibarea fosforilării și nu prin reducerea consumului de oxigen.

**Coma etilică** este caracterizată din punct de vedere biochimic, ca și coma barbiturică, printr-o inhibiție a fosforilării, fără scăderea remarcabilă a consumului de oxigen. Se poate asocia uneori o stare de hipoglicemie.

**Coma oxiearbonată,** are la bază hipoxia determinată de blocarea hemoglobinei prin CO, a cărei afinitate este de 204 ori mai mare decât a oxigenului pentru acest pigment. Consecința imediată este hipoxia de transport și hipoxia tisulară, accentuată prin prezența carboxihemoglobinei care deplasează spre stînga curba de disociere a oxihemoglobinei încă nebloată. Sînt inhibate de asemenea enzimele respiratorii heminice, implicate în lanțul respirator de transport electronic.

**Coma sau encefalita saturnină** pare să fie mai puțin rezultatul atingerii directe a centrilor nervoși, ci mai ales consecința modificărilor vasculare, corelate cu acțiunea inhibitoare asupra unor sisteme enzimatice. Plumbul poate bloca grupările-SH a importanțelor SH-enzime, sau poate deplasa ionii metalici biologici activi din metalenzime. Se mai ia în considerație și fixarea plumbului pe structurile membranoase ale celulei, cu împiedicarea sintezei proteinelor enzimatice. În ansamblu, în encefalopatia saturnină procesele de oxidoreducere celulară sînt alternate cu hipoxie și hipercapnie consecutivă și cu scăderea consumului de oxigen cerebral.

**Coma prin intoxicație cu compuși organo-fosforici.** Compușii organo-fosforici (unele pesticide) pot provoca intoxicații profesionale, ca urmare a unei manipulări neprotejate. Această comă are la bază inhibiția colinesterazelor, cu hipoactivitate vagomimetică, consecutivă acumulării de acetilcolină. Aceasta determină trei grupuri de efecte toxice: efecte muscarinice, datorate acumulării acetilcolinei nehidrolizate în terminațiile nervoase postganglionare (hiper-

secreții, bronhospasme, hipotensiune, vărsături, colici abdominale); efecte nicotinique, datorate acumulării acetilcolinei în plăcile neuromusculare (fibrilații, crampe, pareze musculare); efecte asupra sistemului nervos central, inițial de stimulare cu stare de agitație, urmată de depresiune, adinamie, comă.

*Come prin intoxicații exogene medicamentoase.* Dintre acțiunile ce stau la baza instalării stărilor comatoase în aceste situații pot fi subliniate: „acțiunea narcobiotică” exercitată de unele neuroleptice de tipul clorpromazinei, decuplarea fosforilării oxidative din mitocondriile cerebrale, inhibiția citocromului și a citocromo-reductazei provocată de tranchilizante de tipul meprobamat sau clordiazepoxid (Librium) sau diazepam (Valium). Substanțele antidepresive de tipul imipraminei sau al derivaților hidrazinei (Niamid) pot provoca stări comatoase prin inhibiția MAO (monoaminoxidazei) ce intervine în metabolismul catecolaminelor, cu rol în menținerea stării de veghe.

## XVIII.7. LICHIDUL CEFALO-RAHIDIAN

Lichidul cefalo-rahidian se găsește în ventriculii cerebrali și spațiul subarahnoidian. Prin difuziune, el este în schimb relativ rapid, cu lichidul interstițial al creierului, cu care are de altfel asemănare de compoziție. Schimbul metabolic între l.c.r. și celula nervoasă este permanent. Împreună cu așa-numita „barieră hemato-encefalică”, funcția l.c.r. este de a apăra celula nervoasă, menținând constant mediul intern al creierului. Creierul este astfel apărât de tulburările acido-bazice (nerespiratorii din restul organismului), cit și de tulburările metabolismului electrolitic ce privesc ionii  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ . În privința mecanismului formării l.c.r. sînt două teorii și anume:

— *ultrafiltrarea l.c.r.* fiind considerat un ultrafiltrat sau dializat al plasmei sanguine;

— *secreția l.c.r.* fiind secretat de celulele plexului coroid-ventricular, cu un debit de  $0,3-0,4$  ml/minut, volumul său total fiind de 150 ml (reînnoit la interval de 3—4 ore).

*Principalele proprietăți fizico-chimice ale l.c.r.* Este un lichid limpede transparent, incolor, cu aparență de apă. Densitatea sa este cuprinsă între 1,002—1,008, punctul său crioscopic este egal cu acela al plasmei sanguine. Delta ( $\Delta$ ) =  $-0,56$ , pH-ul între 7,3—7,4, rezerva alcalină 40—60 volume  $CO_2$  la 100 ml (18—27 mEq). Compoziția l.c.r. este redată în tabelul XVIII.4 cu micile diferențe ce există între lichidul ventricular și cel lombar. Pot fi subliniate unele aspecte diferențiale față de plasmă. Astfel, concentrația clorului este mai mare decît în plasmă (127 mEq față de 102 mEq). Clorurorahia crește în crize convulsive și prezintă scăderi în meningitele t.b.c. În acest caz prezența triptofanului întărește diagnosticul. Concentrația ionului  $Mg^{++}$  este de asemenea de două ori mai crescută decît în plasmă. Nivelul calciului este comparabil cu acela al concentrației calciului serie ultrafiltrabil (cca 50% din cea plasmatică). Concentrația fosforului anorganic este, de asemenea, mai scăzută, în timp ce aceea a bicarbonaților și a ionilor  $H^+$  este aceeași cu cea plasmatică.



Compoziția lichidului cefalo-rahidian (la 1 000 ml)

Componente	Concentrație
<b>Componente minerale</b>	
Clor	4,50 g (127 mEq)
Sodiu	3,27 g (142 mEq)
Potasiu	0,12 g (3 mEq)
Calciu	0,05 g (2,5 mEq)
Magneziu	0,03 g (2,5 mEq)
Fosfor neorganic	0,02 g (1 mEq)
<b>Componente organice</b>	
Glucoza	
lichid ventricular	0,80 g
lichid lombar	0,55 g
Acid lactic	0,09—0,15
Proteine	
lichid ventricular	0,10—0,16 g
lichid lombar	0,16—0,28 g
Albumină	
lichid ventricular	0,08—0,14 g
lichid lombar	0,14—0,25 g
Globuline	
lichid ventricular	0,01—0,04 g
lichid lombar	0,02—0,08 g
Azot neproteic	0,16—0,21 g
Acid uric	0,02 g
Cholesterol	urme
Lecitină	0,22 g
Creatinină	0,01 g
Vitamină	0,01 mg

(După Polonovski M.)

— Cupirahia normală este de 6—10  $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ , putînd atinge 20—30  $\mu\text{g}$  în degenerescența hepato-lenticulară (boala Wilson), concentrația urică a l.c.r. reflectă pe cea plasmatică, în medie 0,25 g/1 000 ml).

— Glicorahia este în medie 0,60 g/l pentru o glicemie de 1 g/l. Raportul constant dintre glicorahie și glicemie se alterează cînd intervine un proces enzimatic glicolitic ce se petrece local, datorat fiind polimorfonuclearelor sau agenților microbieni. Scăderea glicorahiei, este un semn constant al meningitelor purulente și mai ales al celor meningococice. Hiperglicorahia se întîlnește în encefalită epidemică, sifilisul meningeal, hipertensiunea craniană și diabetul zaharat (pancreatic).

**Proteinorahia** în medie de 0,20 g/l crește paralel cu mărirea numărului de elemente celulare în cursul meningitelor acute sau subacute TBC și sifilitice. Disocierea albumino-citologică (adică numai creșterea proteinorahiei) se produce în compresii medulare și cerebrale, în rahimeningite. Din punct de vedere calitativ fracțiunile proteice conținute în l.c.r. corespund celor existente în plasmă; sînt observate diferențe de repartiție. Caracteristicile esențiale proteinogramei l.c.r. sînt următoarele:

- procent ridicat de prealbumină (bogată în triptofan);
- $\alpha$ -1-antitripsina este un component major al  $\alpha$ -globulinei în l.c.r.;

— în zona de mobilitate  $\beta$ -1-transferină, se notează un arc dublu ce semnaleză prezența unei transferine, poate de origine cerebrală.

— existența post-gamaglobulinelor cu greutate moleculară mică ce conțin un procent însemnat de prolină, hidroxiprolină și hidroxilizină, în cantitate mică;

— în l.c.r. normal nu se găsește fibrinogen.

În compresiunile medulare l.c.r. xantocromic (prin derivații catabolismului Hgb-ei) conține fibrinogen (sindrom Froin).

În mielomul multiplu se poate decela în l.c.r. anomalia globulinică din ser.

Creșterea gamaglobulinelor în l.c.r. se observă în meningitele TBC, scleroză în plăci, sifilis nervos.



## Cap. XIX. RINICHIUL ȘI URINA

Rinichiul este un organ cu rol homeostatic foarte important. El menține constantă compoziția și volumul lichidului extracelular. Funcția sa principală este producerea urinei, prin care se reglează tranzitul hidric, se elimină produsele finale ale metabolismului, substanțele în exces și cele străine, ca atare, sau produsele lor de detoxifiere.

Funcțiile homeostatice ale rinichiului pot fi încadrate în următoarele patru categorii :

a) *reglarea volumului și osmolarității* fluidelor organice prin procese selective de resorbție sau secreție a ionilor și a apei ;

b) *reglarea echilibrului acido-bazic* în cooperare cu plămînul și cu diferitele sisteme tampon din spațiul extracelular. Controlul pH-ului joacă un rol însemnat, alături de păstrarea constanței și distribuției fiecărui ion în parte ;

c) *eliminarea produselor finale ale metabolismului* — solubile și nevolatile (uree, acid uric, creatină, creatinină, bilirubină conjugată, electroliți etc.), precum și substanțele străine, metabolizate prin enzimele „xenobiotice“.

d) *participarea la unele procese metabolice de biosinteză și reglare* : biosinteza, reglarea și secreția unor hormoni ca renina, eritropoietina, 1,25-dihidroxicolecalciferol (reglarea nivelului  $\text{Ca}^{2+}$  în lichidul extracelular).

### XIX. 1. ELEMENTE DE STRUCTURĂ FUNCȚIONALĂ RENALĂ

Unitatea morfo-funcțională renală este nefronul. La om fiecare rinichi conține cca 1 milion de nefroni. Deoarece lungimea unui nefron este, în medie, de 50 mm, întinderea totală a nefronilor într-un rinichi este de cca 50 km. Formarea urinei se bazează, în principal, pe combinația dintre unele procese fundamentale care se petrec la nivelul diferitelor segmente ce alcătuiesc

nefronul. Aceste procese sînt : filtrare, la nivelul glomerulului ; *retroresorbție specifică* în tubuli și excreția tubulară, prin care substanțele extrase trec din lichidul extracelular, prin transfer în urină ; *secreția* substanțelor formate în rinichi.

### XIX.1.1. GLOMERULUL

Are forma și mărimea unei sfere cu diametrul de 200  $\mu$ , ce posedă un pol vascular — în care pătrunde arteriola aferentă și de unde iese arteriola eferentă — și un pol urinar care se racordează cu prima porțiune a tubului urinifer, tubul contort proximal. Glomerulul cuprinde un înveliș, capsula Bowmann și un ghem de capilare (flocculus). Spațiul urinar cuprins între acest ghem și capsulă se deschide în tubul contort proximal. La polul vascular se găsește și aparatul juxtaglomerular, situat între arterele aferente și eferente. El este alcătuit din mai multe elemente (celule granulate, macula densa și lacis-ul din media arteriolei aferente). Trebuie menționat în mod special că celulele granulate au un caracter de celule musculare netede, modificate, ce secretă renina. Capsula Bowmann este constituită dintr-o membrană bazală, dublată pe fața sa profundă cu un epiteliu plat. Ea este în continuitate cu membrana bazală tubulară și cu aceea a capilarelor glomerulare. Membrana bazală cuprinde trei straturi : unul central electronic dens — și două, mai puțin dense electronic, lamina rară, externă și internă (Fig. XIX.1). Endoteliul capilar este situat înăuntrul membranei bazale, înconjurînd în întregime lumenul capilar. El este „fenestrat“ avînd pori cu diametrul de 600—1 000 Å. Fața externă a membranei bazale este acoperită de celule epiteliale denumite „podocite“, ele fiind inserate prin „pedicele“ (picioare). Între aceste picioare este zona de filtrare prin membrană („filtration split membrană“). Singele care trec din glomerulul capilar în spațiul tubular trebuie să traverseze, deci, o membrană ce constă din trei structuri : endoteliul capilar (fenestrat), membrana bazală (cu cele trei straturi) și un strat epitelial complex (cu podocite). Complexitatea și dimensiunile structurilor de trecere condiționează permeabilitatea selectivă a suprafeței de filtrare în funcție de diametrul, forma, greutatea moleculară și sarcina electrică a substanței ce urmează să traverseze membrana. Factorul limitant principal al excreției urinare a macromoleculelor este greutatea lor moleculară care nu poate depăși, în medie, 70 000 daltoni.

Intenzionat pentru editare 22.1.XIX

### XIX.1.2. TUBUL URINIFER

Plecînd dinspre capsula Bowmann tubul urinifer cuprinde în ordine succesivă : tubul contort proximal, ramura descendentă, subțire a ansei lui Henle, care se curbează și se continuă printr-o ramură ascendentă mai largă, urmată de tubul contort distal. Mai mulți tubi renali se varsă într-un tub colector sau canalul Bellini.



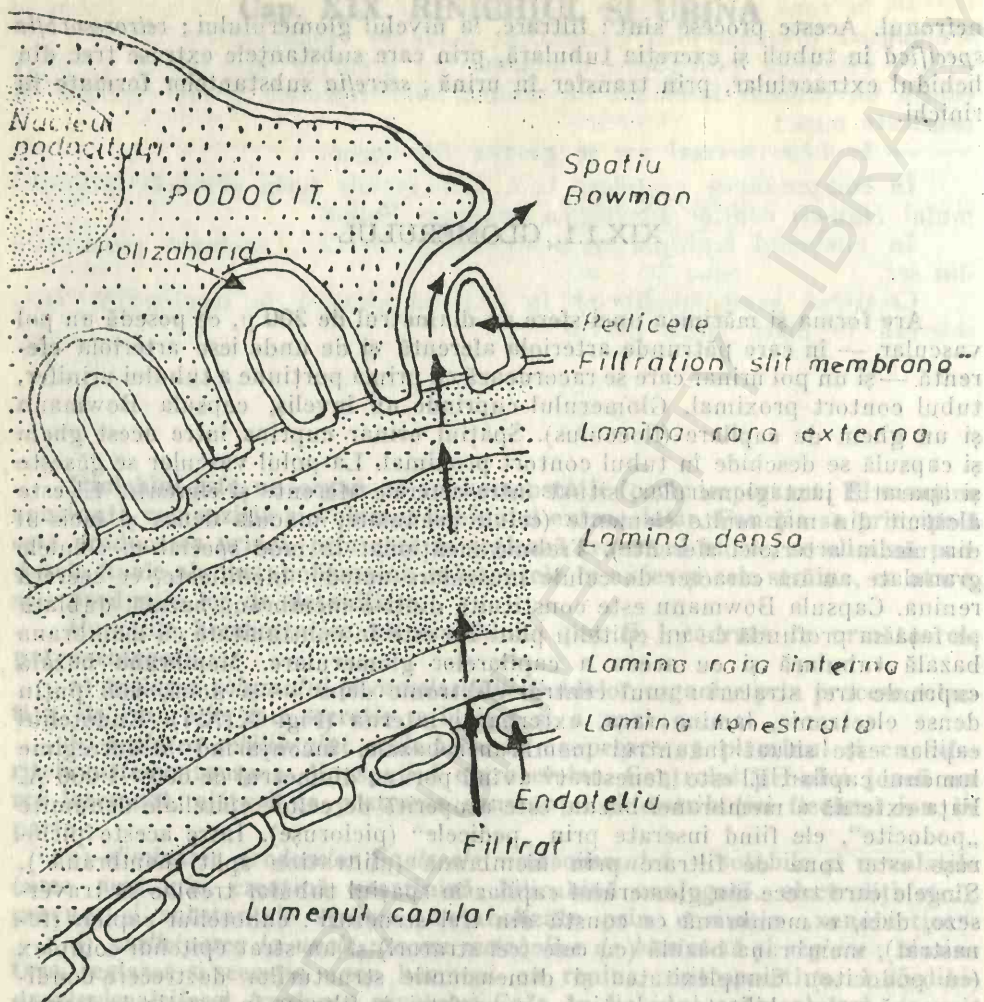


Fig. XIX.1. — Secțiune schematică prin peretele capilarului glomerular.

### XIX.1.2.1. Tubul contort proximal

Posedă un epiteliu de tip permeabil, ale cărui celule au o „margine în perie” alcătuită din microvili. Prin această dispoziție suprafața luminală este mărită de cea 60 de ori. Celulele alcătuiesc o rețea complexă deasupra membranei bazale. În vecinătatea membranei aceste celule posedă numeroase mitocondrii. În ansamblul structural sînt semnalate „canale de trecere” paracelulare. Substanțele ce sînt transportate prin procese active ATP-dependente iau cale transcelulară de reabsorbție, în timp ce alte substanțe (ca ioni

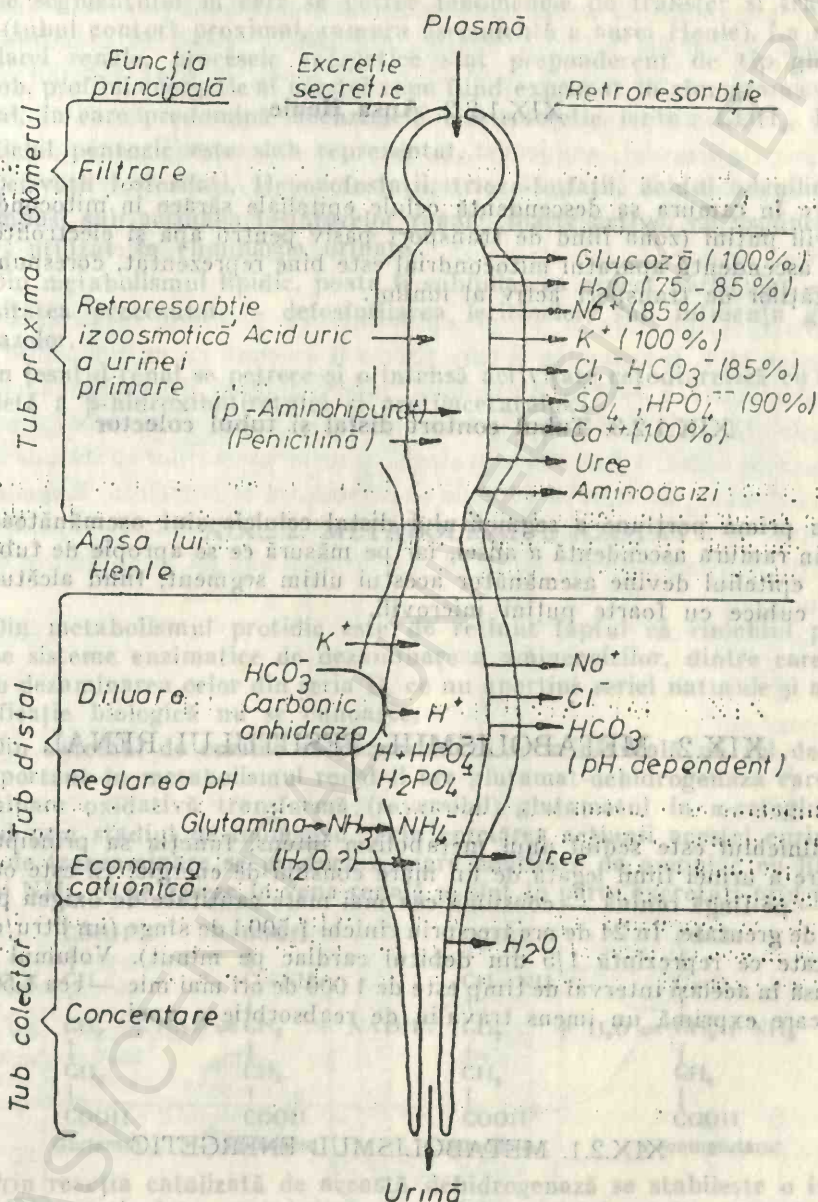


Fig. XIX.2 — Schema sintetică a funcțiilor renale (adaptare după Rapaport).



$\text{Cl}^-$  de exemplu), pot fi parțial reabsorbiți, pe calea paracelulară. În acest segment sint reabsorbite 60—70% din totalul apei și ionilor, totalul de glucoză, aminoacizii, ureea, bicarbonații, fosfatul, sulfatul și ionii de Ca (fig. XIX.2).

### XIX.1.2.2. Ansa Henle

Are în ramura sa descendentă celule epiteliale sărace în mitocondrii și microvili puțini (zona fiind de transport pasiv pentru apă și electroliți), iar în cea ascendentă aparatul mitocondrial este bine reprezentat, corespunzător necesităților de transport activ al ionilor.

### XIX.1.2.3. Tubul contort distal și tubul colector

În prima porțiune a segmentului distal celulele sint asemănătoare cu cele din ramura ascendentă a ansei, iar pe măsură ce se apropie de tubul colector, epitelii devine asemănător acestui ultim segment, fiind alcătuit din celule cubice cu foarte puțini microvili.

## XIX.2. METABOLISMUL TESUTULUI RENAL

Rinichiul este sediul unui metabolism intens, funcția sa principală de formare a urinei fiind legată de un mare consum de energie. El este organul care — pe lângă renină — consumă cea mai mare cantitate de oxigen pe unitatea de greutate. În 24 de ore trec prin rinichi 1 500 l de sânge (un litru/minut, cantitate ce reprezintă 1/5 din debitul cardiac pe minut). Volumul urinei produsă în același interval de timp este de 1 000 de ori mai mic — cca 1,500 l — fapt care exprimă un imens travaliu de reabsorbție a apei.

### XIX.2.1. METABOLISMUL ENERGETIC

În zonele cu celule renale, bogate în mitocondrii, reacțiile ciclului tri-carboxilic și enzimele implicate în această sferă metabolică sint foarte active, fosforilarea oxidativă atingând nivelul ridicat corespunzător arderilor. Zimograma LDH, efectuată în zona corticală este de tipul anodal, cu prepon-

deranța izoenzimelor electroforetic rapide, LDH<sub>1</sub>, LDH<sub>2</sub>, așa cum se obține în general, din țesuturi cu procese energetice respiratorii intense. Ca localizare, sistemul succinoxidază și în general cel cicloforază este abundent în celulele segmentului în care se petrec fenomenele de transfer și transport activ (tubul contort proximal, ramura ascendentă a ansei Henle). La nivelul medularei renale, procesele energetice sînt preponderent de tip glicolitic anaerob, profilul energetic al acestei zone fiind exprimat în zimograma de tip catodal, în care predomină izoenzimele electroforetic lente: LDH<sub>4</sub>, LDH<sub>5</sub>.

Cicluul pentozic este slab reprezentat. Derivații fosforilați. Hexozofosfați, triozo-fosfați, acidul adenilic, sînt descompuși sub acțiunea fosfatazelor renale, foarte active, cu producere de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> utilizat în eliminările urinare.

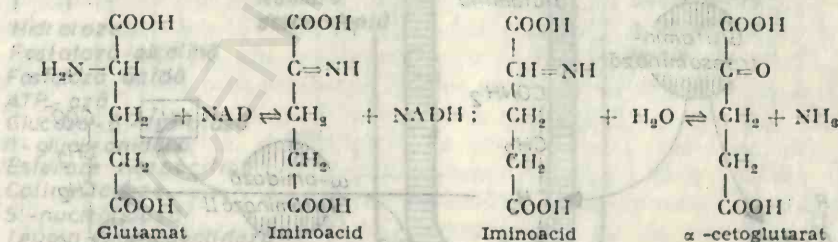
Din metabolismul lipidic, poate fi subliniat ca aspect particular — prin intensitatea procesului — defosforilarea lecitinelor, sub influența glicerofosfatazelor.

În țesutul renal se petrece și o intensă activitate ceto-diuretică cu ardere completă a β-hidroxibutiratului și acetilacetatului.

## XIX.2.2. METABOLISMUL AZOTAT

Din metabolismul protidic este de reținut faptul că rinichiul posedă intense sisteme enzimatice de dezaminare a aminoacizilor, dintre care unul pentru dezaminarea celor din seria D, ce nu aparține seriei naturale și a cărei semnificație biologică nu se cunoaște.

Din sistemul de enzime ce dezaminează seria naturală un rol deosebit de important în metabolismul renal îl are glutamat-dehidrogenaza care prin dezaminare oxidativă transformă (reversibil) glutamatul în α-cetoglutarat, trecînd prin stadiul de iminoacid. Prin corelarea acțiunii acestei enzime cu aceea de transaminare se produce o mare cantitate de amoniac cu liberare de ioni NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ce se găsește în vena renală și sînt în parte excretați prin urină:



Prin reacția catalizată de această dehidrogenază se stabilește o importantă interrelație între metabolismul protidic și cicluul acizilor tricarboxilici, ce poate fi alimentat și pe această cale cu α-cetoglutarat. Datorită reversibilității reacției catalizată de glutamatdehidrogenază în asociație cu transaminazele, este posibilă fixarea amoniacului, cu refacerea aminoacizilor din acizii cetonici corespunzători. Dar sursa principală a amoniacului și a ionilor NH<sub>4</sub><sup>+</sup>,



formați în rinichi, este reprezentată de glutamină. Grupul amino din glutamină este liberat prin acțiunea complexului enzimatic, glutaminaza II ( $\omega$ -amidază), ansamblul reacțiilor fiind redat în Fig. XIX.3.

Din metabolismul azotat pot fi menționate încă două procese. Primul este formarea anhidridei acidului metilguanidinacetic, adică al creatininei din creatină, care se petrece de altfel mult mai intens în ficat. Celălalt este un proces de detoxifiere — formarea acidului hipuric, prin conjugarea acidului benzoic cu glicocolul, aminoacid, a cărui sinteză se realizează tot în ficat.

În activitatea de biosinteză proteică a rinichiului, legată de funcția sa reglatorie endocrină, o deosebită importanță o au două proteine ce intervin, ca factori de reglare, în hematopoieză, *eritropoietina*, și în reglarea tensiunii arteriale, *renina*.

*Eritropoietina* este o  $\alpha$ -1-glicoproteină, cu greutate moleculară mică, ce conține 10% hexozamine și care pare a fi asociată cu un polipeptid activ. Ea îndeplinește o funcție hormonală, intervenind la diferențierea celulelor de origine în proeritoblaști și la formarea reticulocitelor. *In vitro* favorizează și sinteza hemului. A fost găsită în singele și urina pacienților cu stări de anemie sau poliglobulie. În stări de hipoxie ea stimulează eritropoeza. Experimental s-a arătat că eritropoietina apare la 2—3 ore după instalarea hipoxiei, concentrația sa fiind maximă după 16 ore. Timpul său de înjumătățire este de 3—5 ore.

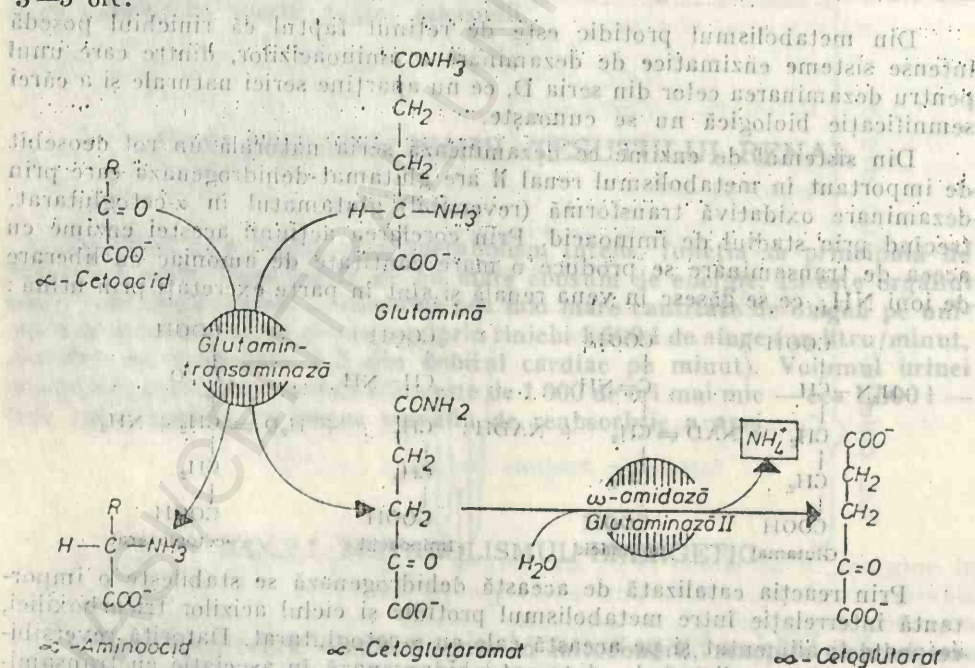


Fig. XIX.3 — Liberare de ioni  $\text{NH}_4^+$  prin degradarea glutaminei sub acțiunea complexului enzimatic glutaminază II.

### XIX.3. PROFILUL ENZIMATIC RENAL

Încercările de profilare enzimatică pe ansamblul organului și pe diferitele segmente funcționale ale nefronului sînt bazate atît pe tehnici histoenzimologice, topochimice, calitative, cît și pe tehnici cantitative de ultramicrochimie, precedate de microdisecție și aplicate în investigația renală de Mattenheimer. În fig. XIX.4 este prezentat schematic profilul enzimatic normal al nefronului uman, cu referire la conținutul său în oxidoreductaze și hidrolaze. Se relevă bogăția și intensitatea activităților enzimatice — cu excepția 5'-nucleotidazei, a tubilor contorți, în special, a celui proximal (unde se petrec

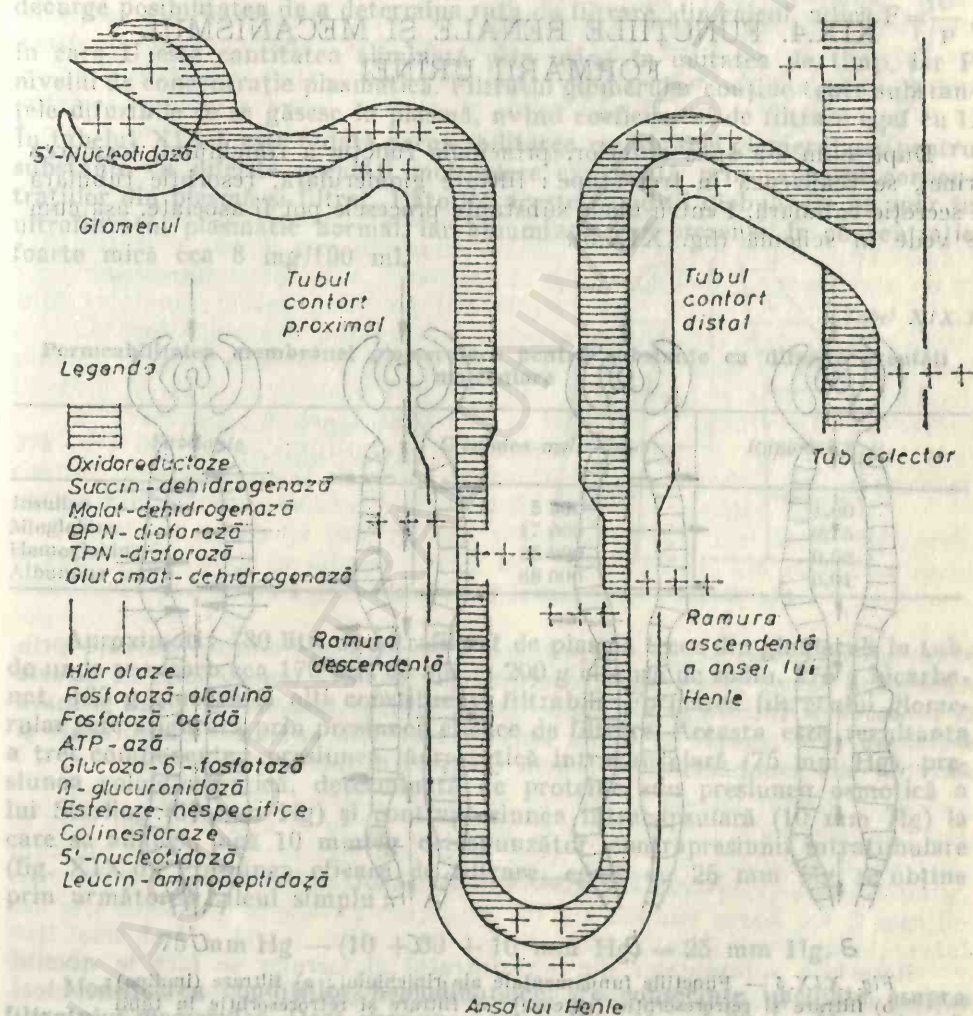


Fig. XIX.4 — Profilul enzimatic normal al nefronului uman.



procesele puternic consumatoare de energie) și aspectul invers la nivelul glomerulului unde se petrec procesele pasive ale ultrafiltrării, cu formarea urinei primitive.

În celulele tubulare renale se găsește o enzimă „de membrană”  $\gamma$ -glutamil-transpeptidaza ( $\gamma$ GT) — extrem de activă, care pare să fie implicată în transportul aminoacizilor. Deși în țesutul renal activitatea GT este mai ridicată decât la celelalte țesuturi, explorarea acestei activități enzimatică nu a intrat încă în chimia clinică renală. Pentru stabilirea profilului patologiei renale, stau la dispoziție numeroase date experimentale ce nu pot fi în întregime extrapolate la om și, relativ, puține date concludente asupra modificărilor produse prin patologia umană.

#### XIX.4. FUNCȚIILE RENALE ȘI MECANISMUL FORMĂRII URINEI

După cum s-a spus anterior, principala funcție a rinichiului, formarea urinei, se realizează în trei etape: filtrare glomerulară, resorbție tubulară și secreție tubulară. Pentru unele substanțe procesele pot fi asociate, așa cum se vede în schemă (fig. XIX.5).

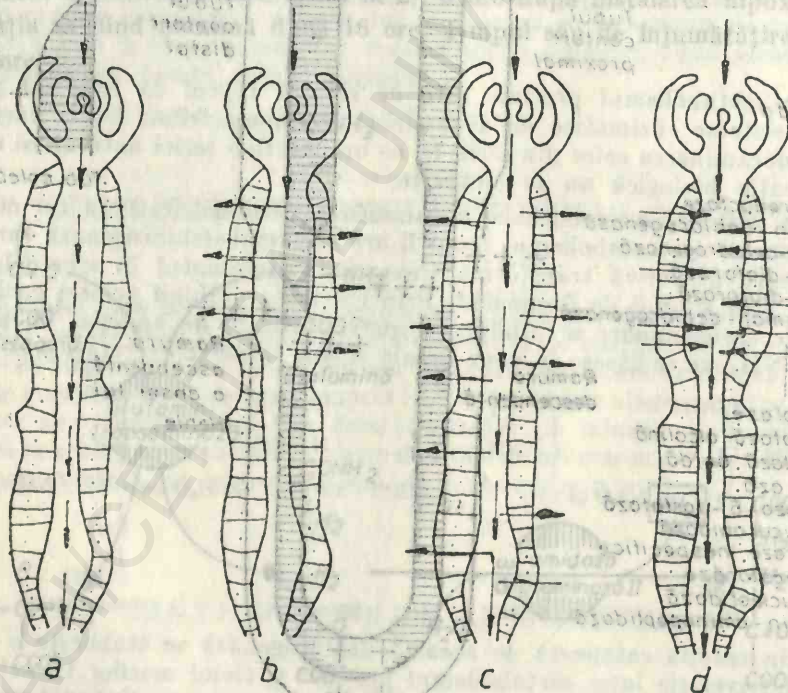


Fig. XIX.5 — Funcțiile fundamentale ale rinichiului: a) filtrare (inulina); b) filtrare și retroresorbție (glucoza); c) filtrare și retroresorbție în tubii proximal și distal (uree); d) filtrare și excreție tubulară (Diodrast) — adaptare după Rapaport

## XIX.4.1. FILTRAREA GLOMERULARA

Prima etapă a formării ultrafiltratului glomerular din plasma sanguină, ce constituie urina primară, se realizează la nivelul glomerulului. Viteza de formare a ultrafiltratului este de 125 ml/minut, reprezentind 15—20% din fluxul plasmatic renal corespunzător. Valorile sînt valabile pentru un adult de talie mijlocie cu o suprafață corporală de 1,7 m<sup>2</sup>. În interiorul capsulei Bowmann ionii sînt distribuiți conform raportului cerut de echilibrul Donnan.

O substanță care este doar filtrată (ca de ex. insulina) se elimină în urină într-o cantitate egală cu cea filtrată. Aceasta reprezintă produsul dintre concentrația plasmatică și rata de filtrare (F), deci:  $U = P \cdot F$ . Din acest raport decurge posibilitatea de a determina rata de filtrare, din calcul, adică  $F = \frac{U}{P}$ ,

în care U este cantitatea eliminată prin urină în unitatea de timp, iar P nivelul de concentrație plasmatică. Filtratul glomerular conține toate substanțele difuzibile ce se găsesc în plasmă, avind coeficientul de filtrare egal cu 1. În tabelul XIX.1 este redată permeabilitatea membranei glomerulare, pentru substanțe cu diferite greutatea moleculare, exprimată prin raportul concentrațiilor din plasmă și filtrat. Datorită acestei condiții globulinele nu apar în ultrafiltratul plasmatic normal, iar albuminele sînt prezente în concentrație foarte mică cca 8 mg/100 ml.

Tabel XIX.1

Permeabilitatea membranei glomerulare pentru substanțe cu diferite greutatea moleculare

Substanțe	Greutatea moleculară	Raportul F/P
Insulina	5 500	1,00
Mioglobina	17 000	0,75
Hemoglobina	68 000	0,03
Albumina serică	69 000	0,01

Aproximativ 180 litri de ultrafiltrat de plasmă trece din glomeruli în tub, de unde se resorb cca 179 litri de apă, 1 200 g clorură de sodiu, 275 g bicarbonat, 180 g glucoză și alți constituenți filtrabili. Formarea filtratului glomerular este asigurată prin presiunea eficace de filtrare. Aceasta este rezultanta a trei componente: presiunea hidrostatică intracapsulară (75 mm Hg), presiunea coloid-osmotică, determinată de proteine sau presiunea osmotică a lui Starling (30 mm Hg) și contrapresiunea intracapsulară (10 mm Hg) la care se adaugă încă 10 mmHg corespunzător contrapresiunii intratubulare (fig. XIX.6). Presiunea eficace de filtrare, egală cu 25 mm Hg, se obține prin următorul calcul simplu:

$$75 \text{ mm Hg} - (10 + 30 + 10 \text{ mm Hg}) = 25 \text{ mm Hg}.$$

Modificarea condițiilor hemodinamice are consecințe imediate asupra filtratului glomerular. Dacă presiunea arterială scade sub 99 mm Hg, coboară și presiunea intracapsulară. Cînd aceasta atinge 30 mm Hg se stabilește anuria.



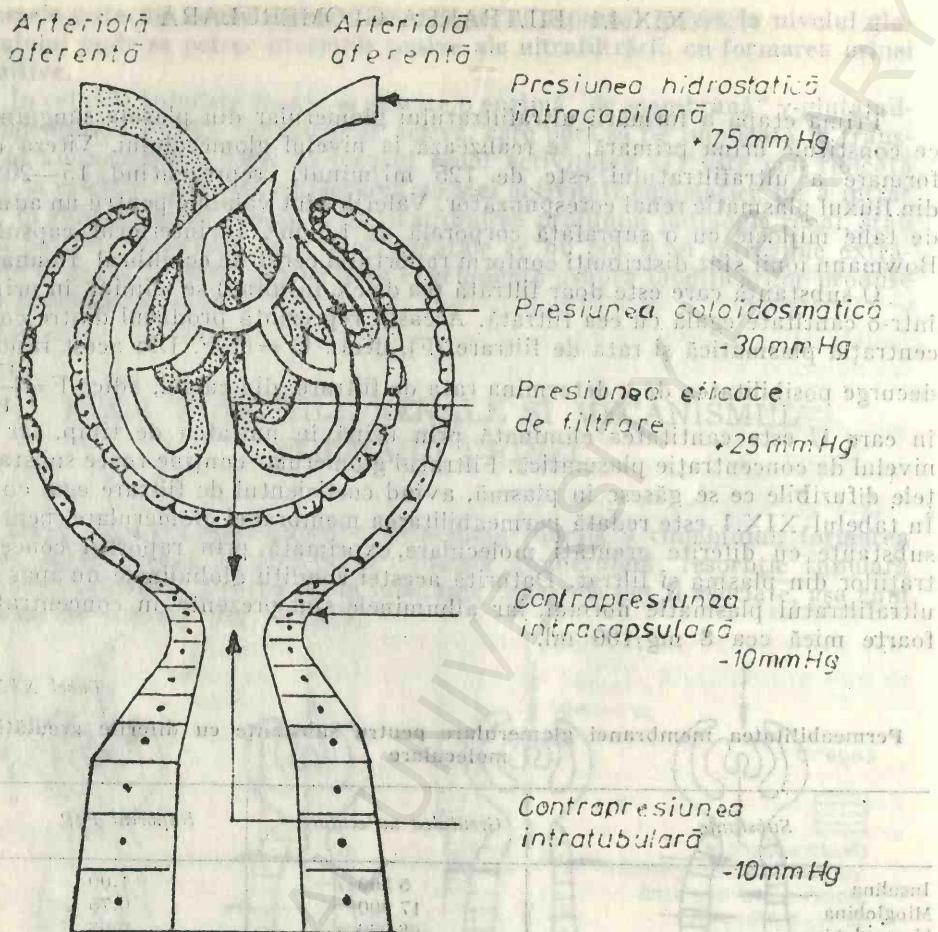


Fig. XIX, 6 — Mecanismul formării filtratului glomerular.

Studiile electromicroscopice, privitoare la trecerea proteinelor marcate prin membrana bazală glomerulară, confirmă participarea fenomenelor de difuzie la procesul de filtrare glomerulară. Tubul urinifer transformă urina primară definitivă prin procese în dublu sens: reabsorbția anumitor constituenți și secreția unor componente ce provin din țesutul interstițial renal.

#### XIX.4.2. RESORBȚIA TUBULARĂ

Resorbția substanțelor din ultrafiltratul glomerular se face la nivelul tubilor renali în două moduri: activ, prin mecanism ATP-dependent, deci cuplat cu procese producătoare de energie sau pasiv, prin diferențe de concentrație sau de potențial electric.

a) *Transportul activ* are o cinetică de saturare analoagă cu aceea a reacțiilor enzimatice (Michaelis-Menten). Din această cauză substanțele se resorb numai pînă la o anumită limită. Procesul se realizează pe baza existenței unor sisteme de tipuri diferite: cu specificitate absolută de substrat (cazul ionilor  $\text{Na}^+$ ), cu specificitate de grup (glucoza, fructoza, galactoza, xiloza), cu viteze maxime de trecere diferite sau deosebindu-se prin  $K_m$  (constanta Michaelis) pentru diferitele substraturi. În mod analog cu sistemele enzimatice, mecanismul de transport activ poate fi inhibat competitiv sau necompetitiv. Componentele resorbite pot fi grupate în două categorii: a) substanțe resorbite activ, transportate contra gradientului lor de concentrație (deoarece în ultrafiltrat ele au o concentrație mai ridicată decît în plasmă), printr-un proces energetic ATP-dependent. Din această categorie fac parte: glucoza (și alte glucide), aminoacizii, ionii  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ , fosfat, sulfat, vitamina C, acidul uric. O caracteristică a substanțelor resorbite activ este existența așa-numitului „prag de eliminare”, adică a unei concentrații sanguine a substanței respective, dedesubtul căreia nu are loc eliminarea sa prin urină. Exemplul cel mai evident de substanță cu prag este glucoza, ce nu trece în urină decît după ce concentrația sanguină depășește 150 mg% (sau chiar 200 mg%). Acest prag pentru glucoză crește cu vîrsta. Analogia dintre cinetica de saturare a transportului activ și aceea a reacțiilor enzimatice are la bază existența mecanismelor enzimatice ce intervin în resorbția tubulară activă. Se pare că resorbția aminoacizilor,  $\text{Na}^+$  și  $\text{K}^+$  se face sub influența unor mecanisme enzimatice, localizate în special în tub. Glucoza este resorbită printr-un proces activ de fosforilare.

Carbonicanhidraza intervine în reglarea echilibrului acido-bazic; glutaminaza, glutamatdehidrogenazele, aminoacidozaminazele și transaminazele intervin în reglarea producerii de amoniac și cetoacizi la nivelul rinichiului.

b) *Transportul pasiv*. În acest mod se resoarbă în tubul contort proximal  $3/4 - 1/5$  din apa ultrafiltratului glomerular, precum și ionii  $\text{Cl}^-$  în tubul contort proximal, distal și ansa ascendentă Henle. Procesul are un caracter obligatoriu (datorat masei retroresorbției active a ionului  $\text{Na}^+$ ).

Există și substanțe care nu sînt resorbite în tub, nici activ, nici pasiv și care nu au prag de eliminare. Ele sînt doar filtrate, așa cum este cazul creatininei endogene, ce nu apare în lichidul de resorbție.

#### XIX.4.3. SECREȚIA TUBULARĂ

Prin îndeplinirea acestei funcții, se produc la nivelul tubilor substanțe ce apar în urină, fără ca ele să fi existat în ultrafiltratul glomerular sau sînt prezente într-o concentrație mai mare decît ar fi fost îndreptățită de concentrația lor în urina primară. Din prima categorie face parte acidul hipuric, sau alte substanțe aromatice conjugate, iar din cealaltă grupă pot fi menționați ionii de  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$  și unele medicamente (penicilinele), paraminohipuratul (PAH).

Localizarea proceselor renale a fost studiată prin cercetări bazate pe micro-puncție (Richard). S-a arătat că în tubul contort proximal osmolaritatea lichidului tubular nu se schimbă iar  $3/4$  din urina primară este retroresorbită



și că tot la acest nivel se produc retroresorbția glucozei și a ionilor de  $K^+$ , eliminarea paraminohipuratului și roșului de fenol. În tubul contort distal sînt localizate procesele de diluție și concentrare a urinei, acidifierea urinară, eliminarea de  $K^+$  și secreția de amoniac.

## XIX.5. EXCREȚIA URINARĂ A COMPONENTELOR SANGUINE

### XIX.5.1. COMPONENTE MINERALE

#### XIX.5.1.1. Apa

Aproximativ 80—85% din apa ultrafiltratului glomerular se resoarbe prin mecanism pasiv, ca un proces „obligatoriu” consecutiv retroresorbției active a ionului  $Na^+$ , fără schimbarea osmolarității. În ramura descendentă a ansei Henle apa pătrunde în mediul înconjurător, iar lichidul intratubular devine hiperosmotic. În ramura ascendentă a ansei Henle se resoarbe activ o anumită cantitate de  $Na^+$ , avînd ca urmare o diluare a lichidului urinar, cu scăderea presiunii osmotice. La nivelul tubului contort distal și al celui colector, apa se resoarbe activ, cu o intensitate variabilă, reglată hormonal, în principal prin acțiunea vasopresinei sau a hormonului antidiuretic post-hipofizar. Existența unui țesut interstițial puternic hiperosmotic, în regiunea medulopapilară, face posibilă o mare concentrare a urinei în tubul colector, fără intervenția mecanismului de transport activ.

#### XIX.5.1.2. Excreția ionilor de sodiu și de clor

Numai 1% din ionul  $Na^+$  existent în ultrafiltratul glomerular este excretat în urină, fapt care arată intensitatea procesului de resorbție activă (contra gradientului de concentrație) a acestui cation. Sînt trei zone de resorbție a ionilor  $Na^+$  și anume: zona principală este tubul contort proximal unde se resoarbe 85% din totalul ionilor de sodiu. Concomitent se resoarbe și apa, așa încît procesul este izoosmotic. Celelalte zone de resorbție mai reduse sînt: ramura ascendentă a ansei Henle și tubul contort distal și cel colector. La acest nivel se produce un schimb între ionii  $Na^+$  ce trec în interstițiu, contra ionilor  $H^+$ ,  $K^+$  și  $NH_4^+$  ce intră în lumenul tubular. Această reabsorbție cu schimb ionic reglează excreția urinară a sodiului. Concomitent cu resorbția ionilor  $Na^+$  se face, în mod pasiv, și aceea a ionilor de  $Cl^-$  (resorbiți 99%),

precum și a unei cantități mai reduse de ioni bicarbonici —  $\text{CO}_3\text{H}^-$  — (vezi fig. XIX.2). Ionii  $\text{Cl}^-$  eliminați, echilibrează electric nu numai cationii  $\text{Na}^+$ , ci și  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{NH}_4^+$ . Schimbul ionic cu  $\text{K}^+$  de la nivelul tubului contort distal este principalul reglat prin aldosteron care favorizează intrarea  $\text{Na}^+$ , în celulă și excreția de  $\text{K}^+$ . Schimbul ionic cu  $\text{H}^+$  este reglat prin nivelul cantității de protoni proveniți din disocierea  $\text{H}_2\text{CO}_3$  sub acțiunea anhidrazei carbonice din celulele tubulare (fig. XIX.7). De altfel, prin acest mecanism ionul  $\text{Na}^+$  intervine în reglarea echilibrului acido-bazic al organismului.

Ionul  $\text{Na}^+$  este excretat prin urină când debitul de filtrare este crescut sau resorbția din tubul contort proximal insuficientă.

### XIX.5.1.3. Excreția ionilor de potasiu

Nivelul urinar al  $\text{K}^+$ , de care depinde homeostazia acestui cation în organism, este reglat prin două procese contrarii: resorbția și secreția. Totalitatea ionilor  $\text{K}^+$  din ultrafiltratul glomerular, este resorbită în tubul contort proximal. La nivelul tubului contort distal se produce secreția de  $\text{K}^+$  cu schimb ionic menționat ( $\text{Na}^+$  resorbit). În acest schimb ionii  $\text{K}^+$  sînt în competiție cu ionii  $\text{H}^+$ . În situații cînd nivelul  $\text{K}^+$  intracelular este ridicat, schimbul ionilor  $\text{Na}^+$  resorbiți se va face contra  $\text{K}^+$  ce ies în lumenul tubular, avînd ca urmare scăderea acidității urinare exprimate prin creșterea pH-ului. În situații inverse, schimbul se face contra  $\text{H}^+$  cu creșterea acidității urinare exprimată prin scăderea pH-ului. Prin acest mecanism se manifestă relația dintre excreția potasiului și reglarea echilibrului acido-bazic.

### XIX.5.1.4. Excreția ionului de calciu

În partea terminală a tubului contort proximal se resoarbe 95% din calciul ultrafiltrabil din plasmă ce traversează filtrul glomerular, trecînd în urina primară. Există un oarecare paralelism între excreția de  $\text{Ca}^{++}$  și cea de  $\text{K}^+$  și o competiție între schimbarea de  $\text{K}^+$  și  $\text{Ca}^{++}$  și a celor de  $\text{H}^+$ . În mecanismul absorbției calciului se discută intervenția unei ATP-aze  $\text{Ca}^{++}$  activată, ce s-ar comporta ca o proteină transportoare de  $\text{Ca}^{++}$ . Resorbția tubulară a  $\text{Ca}^{++}$  este diminuată de hormonul de creștere antehipofizar.

### XIX.5.1.5. Excreția biocarbonaților și a ionilor fosfat și sulfat

În condiții normale ionul bicarbonic din ultrafiltratul glomerular este aproape total resorbit de-a lungul tubului urinifer. O resorbție suplimentară, dependentă de pH-ul intraluminal, se produce la nivelul tubului contort distal. Excreția de bicarbonat este dependentă, atît de nivelul concentrației



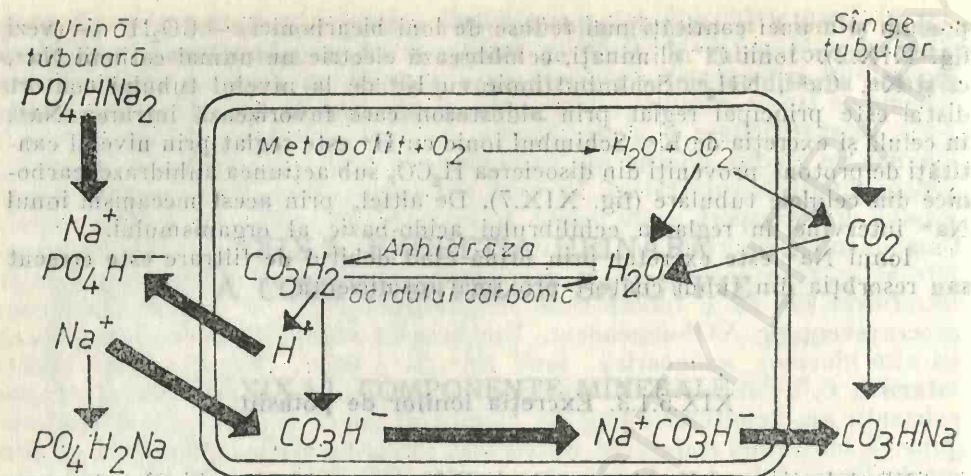


Fig. XIX.7 — Acțiunea anhidrazei carbonice în reglarea schimbului protonic ( $H^+$  caîntî  $Na^+$ ) sale sanguine. — prăgul de eliminare fiind 25—27 val/ml\* — cit și de bilanțul dintre cantitatea de bicarbonat filtrată prin glomerul și schimbul de  $H^+$  ce se petrece la nivelul tubului contort distal. În acest mecanism intervine și anhidraza carbonică. Dacă presiunea parțială a  $CO_2$  este crescută în celulele tubulare se produce trecerea acestuia în acid carbonic, sub acțiunea anhidrazei carbonice iar ca urmare a disocierii acestui acid, o creștere a ionilor de  $H^+$ . Prin schimb ionic  $Na^+$  va fi fixat ca bicarbonat în celule, iar ionii  $H^+$  vor trece în urină. Dacă presiunea parțială a  $CO_2$  este scăzută, în celule intră ioni  $H^+$  ce pot fi schimbați cu ionul  $Na^+$  și ca urmare, rezerva alcalină de bicarbonat celular se micșorează concomitent (fig. XIX.7).

Fosfații din urina primară sînt resorbiți în proporție de 85—90% în tubul contort proximal (cu variații circadiene). În sursele excreției fosfaților anionul  $HPO_4^{2-}$  trece în radicalul fosfat acid  $H_2PO_4^-$  datorită schimbului unui ion  $H^+$  contra unui ion  $Na^+$ , mecanism ce contribuie la reglarea renală a echilibrului acido-bazic și la economisirea de baze fixe. Retroresorbția fosfaților este mărită prin vitamina D și hormonul de creștere antehipofizar și scăzută prin parathormon și tirocalcitonină.

Sulfatii se resorb total în tubul contort proximal.

#### XIX.5.1.6. Excreția amoniacului urinar

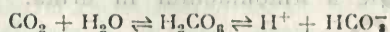
Amoniacul se formează în segmentul distal al tubului urinar, avînd ca sursă principală de amoniac funcția amidică a glutaminei (60% din amoniac) restul provenind din N-aminiile al aminoacizilor. Intervin două enzime: glutaminazele I și II ce acționează asupra glutaminei, și aminooxidaza, care

\* val = miliechivalenți (mEq).

intervine în dezaminarea celorlalți aminoacizi. Excreția amoniacului crește cu aciditatea urinei, el fiind eliminat sub formă de săruri de amoniu ale acizilor prezenți în urină.

### XIX.5.1.7. Excreția ionilor de hidrogen

Acidifierea urinei primare (al cărei pH este alcalin) se petrece la nivelul tubului contort distal prin mecanismul de „schimb ionic” menționat. Datorită acestui mecanism are loc și o crutare a cationului  $\text{Na}^+$ , necesar neutralizării tendințelor acidifiante. Ionul  $\text{H}^+$  este produs prin acțiunea anhidrazei carbonice, în reacția reversibilă de hidratare a  $\text{CO}_2$ :



Cantitatea de  $\text{CO}_2$  necesară reacției provine din activitatea metabolică a tubului urinar din care rezultă și ATP. Acesta este rezervorul energetic de care depind mecanismele de transport activ prin care se face schimbul ionic. Prin excreția ionilor  $\text{H}^+$  rinichiul participă împreună cu plămînul la păstrarea echilibrului acido-bazic al singelui (fig. XIX.8).

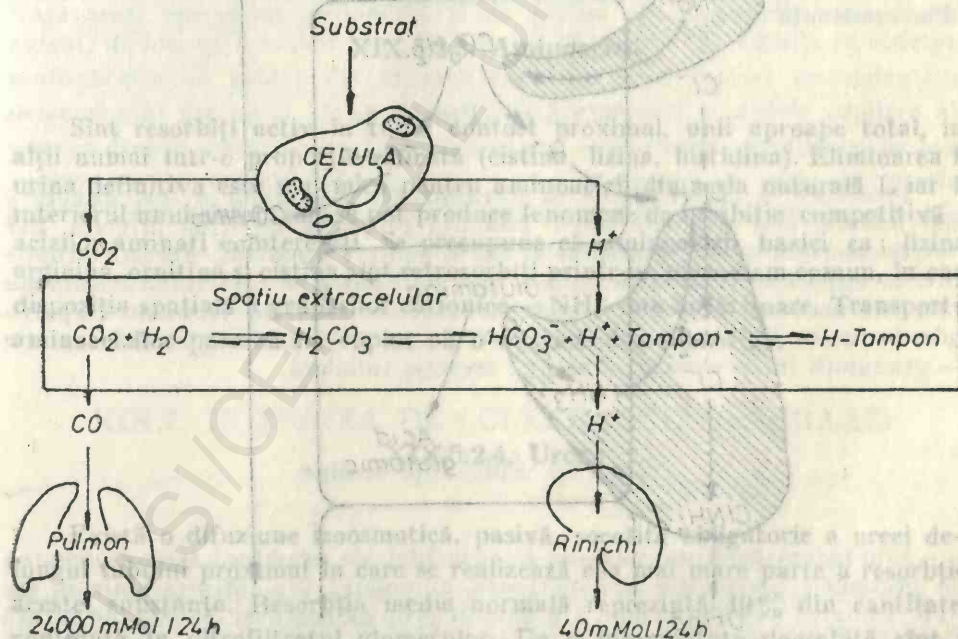


Fig. XIX.8 — Cooperarea între plămîn și rinichi pentru păstrarea echilibrului acido-bazic al singelui.



### XIX.5.1.3. Reglarea echilibrului acido-bazic în tubul contort distal

Această acțiune se realizează prin trei mecanisme tubulare : a) excreția radicalilor acizi liberi, acizi organici (acetil-acetic,  $\beta$ -hidroxibutiric, piruvic, citric). Aciditatea tubulară este de ordinul 20—30 mM/24 ore ; b) eliminarea fosfaților monometalici, proveniți din fosfații dimetalici (din plasma sanguină), avînd ca rezultat recuperarea unui ion  $\text{Na}^+$  pe molecula excretată ; c) formarea amoniacului care înlocuiește în urină bazele fixe ce rămîn în sînge. Ionul  $\text{NH}_4^+$  se substituie ionilor  $\text{Na}^+$  pentru neutralizarea acizilor ce se elimină. Mecanismele de reacție ce intervin în această reglare sînt redată în fig. XIX.9.

Atîta timp cît rinichiul funcționează normal, hiperamoniemia constituie un semn obișnuit al acidozei. La nefritici tulburarea acestui mecanism conduce la slaba concentrație a amoniacului în urină.

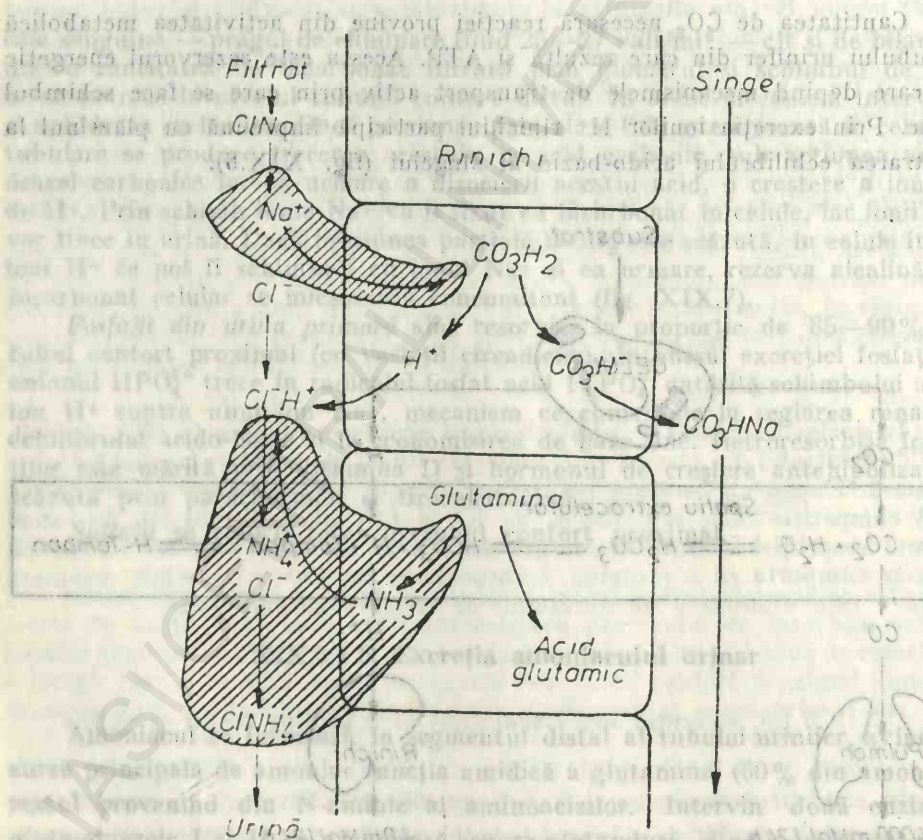


Fig. XIX.9 — Substituirea ionilor de  $\text{Na}^+$  cu ioni  $\text{NH}_4^+$  pentru neutralizarea acizilor ce se elimină prin urină.

## XIX.5.2. COMPONENTE ORGANICE

### XIX.5.2.1. Glucoză

În stare normală, glucoza din urina primară este reabsorbită activ în prima parte a tubului contort proximal. Mecanismul acestui transfer este activ, ATP-dependent și deci legat de un mare consum de oxigen. Nu se formează glucozo-6-fosfat și deci resorbția ar putea să se facă conform „modelului” propus de Crane (1962) și perfecționat pe baze experimentale, până la tipul dat de Goldner (1973) în care intervine formarea unui complex ternar transportor- $\text{Na}^+$ -glucoză și acțiunea unei „pompe  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ ”, ATP-dependentă. Transportul glucozei s-ar realiza în trepte, prin legarea glucozei de o proteină transportoare din microvilli marginali în perie ai celulelor renale, anume ATP-aza natriu dependentă din celulele tubulare. Mecanismul poate fi blocat prin florizină, iar în condiții patologice este tulburat în diabetul renal.

### XIX.5.2.2. Corpii cetonici

Sînt în mică proporție utilizabili ca substrat energetic la nivelul celulelor renale; cea mai mare parte a lor este eliminată prin filtrare.

### XIX.5.2.3. Aminoacizii

Sînt resorbiți activ în tubul contort proximal, unii aproape total, iar alții numai într-o proporție ridicată (cistina, lizina, histidina). Eliminarea în urina definitivă este mai mică pentru aminoacizii din seria naturală L iar în interiorul unui sistem dat se pot produce fenomene de inhibiție competitivă a acizilor aminați cointeressați. Se presupune că aminoacizii bazeici ca: lizina, arginina, ornitina și cistina sînt retrosorbiți printr-un mecanism comun, în care dispoziția spațială a grupărilor cationice  $-\text{NH}_3^+$  este hotărîtoare. Transportul aminoacizilor pare să fie cuplat cu o mișcare a ionilor  $\text{Na}^+$ .

## XIX.7. NOȚIUNEA DE „CLEARANCE” (EPURARE)

### XIX.5.2.4. Ureea

Există o difuziune izoosmotică, pasivă, socotită obligatorie a ureei de-a lungul tubului proximal în care se realizează cea mai mare parte a resorbției acestei substanțe. Resorbția medie normală reprezintă 40% din cantitatea conținută în ultrafiltratul glomerular. De o însemnătate deosebită sînt și fenomenele ce se petrec la nivelul tubului distal și a celui colector, corelate



cu existența unui gradient osmotic corticomedular și a unui rezervor de uree (depozit), în medulara internă și regiunea papilară. În situații de încetinire a diurezei, ureea difuzează în urină către țesutul interstițial iar concentrația urinară a substanței scade. În stări de supraîncărcare hidrică, ureea difuzează din „rezervorul” interstițial medular în urină, determinând o creștere a concentrației sale urinare (mecanism prin contra-curent).

#### XIX.5.2.5. Creatinina

Are o particularitate comună cu unele substanțe neutrale ce pot fi introduse în sânge pe cale intravenoasă : insulină, manitol, hiposulfid de sodiu. Anume, la concentrații fiziologice în plasmă, creatinina endogenă, ca și substanțele menționate, este filtrată prin glomerul și excretată prin urină, fără reabsorbție sau secreție la nivel tubular. Această particularitate este folosită pentru explorarea funcțională a glomerulului, prin măsurarea filtratului glomerular. Prin ridicarea provocată a creatininemiei, creatinina exogenă este excretată printr-un proces de secreție tubulată, supraadăugat celui de filtrare glomerulară.

#### XIX.5.2.6. Acidul uric

Este eliminat printr-un proces al cărui factori de influență nu sînt încă bine cunoscuți.

#### XIX.5.2.7. Proteinele

Proteinele a căror trecere la ultrafiltratul glomerular a fost discutată mai înainte, sînt prezente într-o anumită proporție în urina primară, dar sînt reabsorbite aproape integral în tubul contort proximal. Această situație este de altfel expresia particulară a unei aptitudini pe care celulele tubulare o au de a reabsorbi macromoleculele prezente în fluidul intratubular. Cu particule de tuș de China sau coloranți diverși s-au obținut imagini de resorbție — granulații intracelulare — sau de secreție tubulară.

#### XIX.5.2.8. Substanțe străine

Eliminarea acestora depinde, în principal, de următorii factori : legarea de proteinele plasmatic transportoare, eliminarea sau retroresorbția în tubuli, valoarea pH-ului urinar. Un anumit grup de compuși chimici, de natură diferită, ajunși în sânge pe cale intravenoasă sau prin ingestie, sînt excretați activ de rinichi, datorită unei secreții tubulare de intensitate variată, ce se

supraadaugă filtratului glomerular. Din acest grup fac parte compușii ce sînt folosiți pentru explorarea mai mult sau mai puțin specifică a funcției tubulare: PSP (fenolsulfonftaleină), PAH (acidul paraminohipuric), penicilina, compușii organici și iodați (diodrastul).

## XIX.6. DILUAREA ȘI CONCENTRAREA URINEI

Diluarea urinei se petrece în tubul distal. Procesul se sprijină pe mecanisme diverse și are un caracter obligatoriu, în prima porțiune a acestui tub, independent de faptul că în porțiunea terminală au loc acțiuni de diluare sau concentrare a urinei. Capacitatea de diluție a rinichiului este limitată, așa încît se poate vorbi de un maxim desemnat prin  $T_m$  (capacitate maximă de diluție tubulară) pentru apa liberă. Această mărime este de 10 ml/minut și se supraadaugă în tubul distal lichidului izoton ce vine din tubul proximal. Concentrarea urinei este însă un proces facultativ, reglat prin vasopresină. Lipsa acestui hormon — ca în diabetul insipid — determină eliminarea unei urini foarte diluate. Procesul de concentrare are loc în stare de hidropenie: osmolaritatea urinei ajunge — la om — de patru ori valoarea celei plasmactice. Se produce o diureză obligatorie, independent de compoziția chimică a substanțelor dizolvate. După teoria lui Wirtz, în medulara renală există un mediu hipertonic care determină retroresorbția apei urinare din tubul colector. Prin acest proces este provocată hiperosmolaritatea urinei. Pe lângă acest mecanism, acționează și un proces de concentrare prin contra curent, de intrare a ionilor  $Na^+$  în tub (fig. XIX.10). Se admite că sistemul multiplicator în contra curent cuprinde cele două ramuri (ascendentă și descendentă) ale ansei Henle, tubul colector precum și ansele capilare ale vaselor drepte (vasa recta). În sistem există două fluxuri paralele și de sens contrar cu concentrații diferite. Intervenția mecanismului activ de transfer ( $Na^+$  și uree) la nivelul ramurilor acestui sistem duce la multiplicarea diferenței de concentrație a  $Na^+$ . Prin acest sistem mixt, pasiv-activ, se explică concentrația ridicată a ionilor  $Na^+$  și a ureei către vârful papilei.

## XIX.7. NOȚIUNEA DE „CLEARANCE“ (EPURARE) RENAL

După propunerea lui van Slyke, clearance-ul sau coeficientul de epurare al unei substanțe sanguine, eliminate prin rinichi este exprimat prin raportul dintre debitul urinar al acestei substanțe pe minut și concentrația sa în plasmă. El este egal cu volumul de plasmă care este epurat în fiecare minut



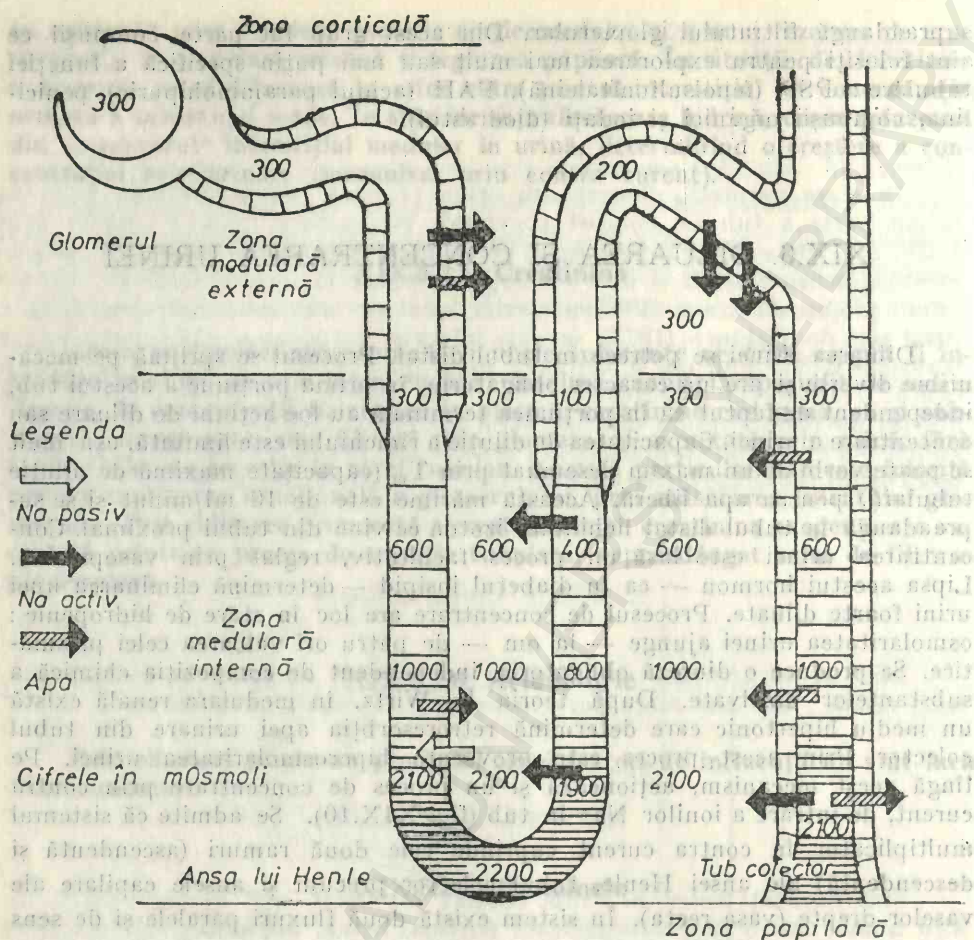


Fig. XIX.10 — Sistemul multiplicator, în „contra curent“, care determină concentrație ridicată a ionilor de Na<sup>+</sup> și a ureei, către papilă (după Rapoport).

de o anumită substanță, ca urmare a travaliului renal. Clearance-ul unei substanțe sanguine, eliminate prin rinichi, este redat prin raportul dintre debitul urinar al acestei substanțe pe minut și concentrația sa plasmatică, adică :

$$C = \frac{U \cdot V}{P}$$

în care :

C = clearance (coeficientul de epurare);

U = concentrația urinară a substanței, exprimară în mg/ml;

V = volumul de urină emis, în ml/minut;

P = concentrația plasmatică a substanței, în mg/ml.

Valorile de clearance se dau în ml de plasmă. Substanțele ce sînt filtrate și resorbite cu o eliminare inferioară cantității filtrate. În afară de uree, ce constituie un caz particular, substanțele se clasează în trei categorii din

punct de vedere al coeficientului lor de epurație (clearance). O primă categorie este alcătuită din substanțe cu structura chimică diferită, printre care se numără inulina, manitolul, hiposulfitul de Na și creatinina endogenă. Clearance-ul lor normal este de 125—130 ml ( $\pm 20$ )/minut, pentru o suprafață de 1,70 m<sup>2</sup> și greutate medie de 70 kg. Substanțele acestea sînt doar filtrate prin glomerul și nu sînt nici resorbite, nici secretate în tubul urinifer. Ele sînt concentrate în mod identic, ca urmare a resorbției unei părți din apa ultrafiltratului glomerular. Clearance-ul lor este constant și independent de valoarea concentrației lor plasmatice. A doua categorie cuprinde majoritatea constituenților obișnuți ai urinei, ce au un clearance mai mic de 130 ml. Sînt substanțe resorbite la nivel tubular, cantitatea reabsorbită scăzînd debitul tubular. În acest caz :

$UV = FI - T$  în care :

UV = debitul urinar ;

FI = cantitatea filtrată ;

T = cantitatea reabsorbită.

Capacitatea de resorbție T reprezintă o limită maximă ce se poate calcula din relația de mai sus, în care T devine  $T_m$ .

O a treia categorie de substanțe au clearance superior filtratului glomerular, deoarece ele trec și printr-un proces de secreție tubulară. Cantitatea secretată se supraadaugă celei deja existente în ultrafiltrat. În această categorie intră : compuși organici (ca diodrastul), acidul paraaminohipuric (PAH) și antibioticele (ca penicilina). În acest caz  $UV = FI + T_s$  în care :

$T_s$  = cantitatea secretată de tub.

Deoarece și excreția tubulară are o limită superioară desemnată ca  $T_m$ , cînd capacitatea de saturare este atinsă,  $UV = FI + T_m$ .

Din această relație se poate calcula :  $T_m = UV - FI$ . În practică se calculează uneori  $T_m$  al PAH( = 78 mg/minut).

În cazul ureei, clearance-ul său de 70 ml traduce reabsorbția cantității de uree ce se găsește în 55 ml plasmă. Clearance-ul ureei este legat și de reabsorbția hidrică și scade odată cu diminuarea diurezei. În porțiunea terminală a tubului colector, către papilă se produce îmbogățirea urinei cu uree și Na<sup>+</sup>, prin mecanismul „în contra curenț” (ipoteza lui Wirtz).

## XIX.8. URINA. CARACTERE GENERALE : FIZICE ȘI CHIMICE

Prin elaborarea urinei, rinichiul asigură homeostazia volemică și metabolică a organismului. În urina normală se elimină zilnic cca 60 g (50—72 g) substanțe solide, dintre care 10—18 g sînt produse ale metabolismului azotat.

În condiții normale se elimină în 24 de ore cca 35 g substanțe organice și 25 g substanțe minerale. Pentru substanțele eliminate, afară de cele obligatorii, în mod normal se găsește și componente ce apar în condiții speciale sau patologice ca : medicamente, metaboliți ai acestora sau substanțe toxice.



După cum s-a arătat, atât capacitatea renală de concentrare, cât și cea de diluție sînt limitate. În condiții de hidropenie se elimină puțină urină foarte concentrată, iar în regimurile cu supra-ofertă de apă, volumul urinei, eliminate este mare și concentrația foarte scăzută. În condiții normale, urinele eliminate în volum redus au osmolaritate ridicată, corespunzînd la aproximativ de cinci ori valoarea celei plasmatice iar în situația inversă — de diluție — valoarea osmolarității atinge 1/5 din cea plasmatică. Zona de variabilitate a osmolarității este foarte largă fiind cuprinsă între 60 și 1 500 mos moli/litru. Domeniul de oscilație al cantității de urină poate varia de la 0,5 — 25 l/zi (condiții excepționale). Reglarea osmotică a urinei are la bază mecanisme neurohormonale redată în figura XIX. 11 în care „osmoreceptorii“

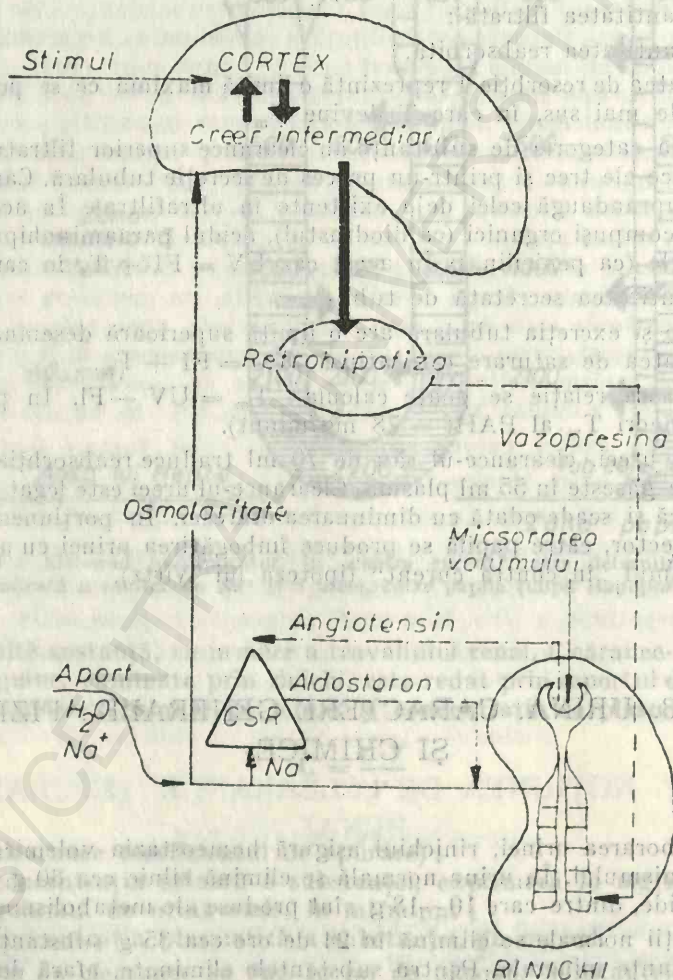


Fig. XIX.11 — Reglarea osmotică a urinei prin mecanisme neurohormonale, CSR = corticala suprarenală.

celulari joacă un rol important. Osmolaritatea crescută a plasmei determină irigația receptorilor, ce pe cale neurohormonală provoacă secreția de vasopresină din retrohipofiză. Inversul se petrece cînd osmolaritatea plasmatică este scăzută.

### XIX.8.1. CANTITATEA

Cantitatea de urină emisă în 24 ore depinde de ingestia de lichide, de pierderile de apă, prin transpirație și de cantitatea de substanțe excretate în urină. Valorile normale în 24 de ore variază cu vîrsta:

Adulți și copii peste 14 ani	1 000—1 600 ml
Adulți și copii peste 8—14 ani	800—1 400 ml
Adulți și copii peste 5—8 ani	650—1 000 ml
Adulți și copii peste 3—5 ani	600—700 ml
Adulți și copii peste 1—3 ani	500—600 ml
Adulți și copii peste 2—12 luni	400—500 ml
Adulți și copii peste 10—60 zile	250—450 ml
Adulți și copii peste 3—10 zile	100—300 ml
Adulți și copii peste 1—2 zile	30—60 ml

Cantitatea de urină variază cu sexul: la bărbați 1 500—2 000 ml/24 ore, la femei 1 200—1 700 ml/24 ore.

Cantitatea de urină mai mare de 2 500 ml/24 ore constituie poliuria. Cantitatea de urină scăzută sub 500 ml/24 ore constituie oliguria. În mod normal, cantitatea de urină eliminată ziua este mai mare decît cea din timpul nopții, raportul fiind de 1:2 și 1:4. Inversarea raportului — nicturia — este patologică.

### XIX.8.2. ASPECTUL ȘI MIROSUL

Urina normală este în general limpede. O urină tulbură în momentul emisiunii poate conține: săruri (urați, oxalați, fosfați sau carbonați); mucus, puroi, epitelii, microbi; grăsimi (aspect lăptos). După cîteva ore de ședere, în urina normală se produce un nor fin, „nubecula“ alcătuit de mucus și celule epiteliate descuamate (fără semnificație patologică). După mai multe ore se depozitează la rece un precipitat din săruri conținute în orice urină normală. Diferențierea orientativă a cauzei tulburării, ce se produce în momentul emisiunii, se face prin mijloace simple\*: prin încălzire dispar urații (cu ex-

\* Pentru detalii tehnice se recomandă consultarea volumului „Metode de laborator de uz curent“ (partea a II-a), apărută sub egida MS-ASM, Ed. Medicală, București, 1977.



ceplia celor de amoniu); încălzirea cu adăugare de câteva picături de acid acetic dizolvă fosfații, urații, carbonații (producere de efervescență); prin adăugarea de soluții HCl (12,5%) se dizolvă oxalații. Hidroxidul de potasiu (sau NaOH) dizolvă urații și provoacă transparența gelatinoasă a urinelor cu puroi. În bacteriuriile cu germeni producători de nitrit (*Escherichia coli*) se aplică pentru orientare proba cu  $\beta$ -naftilamină și acid sulfanilic (R. Gries) sau un test rapid de tipul „Nitur“ Boehringer.

Mirosul urinei normale este „sui generis“ — se poate schimba în cursul infecțiilor urinare ce provoacă un miros amoniacal, în stările de acidoză, cu eliminare de acetona ce dă urinei miros de esență de fructe. Mirosul poate fi modificat și prin ingestia unor alimente ca: sparanghel, usturoi sau prin administrarea de substanțe cu terebentină și eucaliptolul.

### XIX.8.3. CULOAREA

Aceasta depinde de concentrația și natura substanțelor dizolvate în urină, în primul rând de unii pigmenți ca: urocromul, urobilina și porfirina, primul fiind principalul factor de colorare. Urina normală are culoare galbenă-deschis până la galbenă-aurie, în raport cu ora emisiunii, cea din timpul nopții fiind mai concentrată, are o culoare mai închisă.

Culoarea urinei poate fi modificată de diferite substanțe pe care le conține, de natură endogenă sau exogenă. Principalele substanțe care pot modifica culoarea urinei sînt:

- a) substanțe colagene:
  - singele: culoare roșie (nuanță de spălătură de carne), brună sau maronie;
  - porfirinele: culoare roșie sau brun-roșcată;
  - pigmenții biliari (bilirubine): culoare galbenă-verzuie sau brună-verzuie (ca berea neagră), cu spumă galbenă verzuie;
  - hemoglobina, melanina: culoare brună-neagră;
  - alcaptonul: culoare brună spre negru, la scurt timp după emisiunea urinei.
- b) substanțe exogene:
  - albastru de metilen: culoare verde;
  - piramidonul: culoare roșie (datorită acidului rubazonic);
  - compuși fenolici: culoare brună.

Urinile care conțin grăsimi în cantitate apreciabilă au aspect lăptos.

### XIX.8.4. DENSITATEA ȘI VISCOZITATEA URINEI NORMALE

S-a subliniat raportul de proporționalitate inversă dintre volumul și densitatea urinei (cu excepția urinei provenite de la diabetici care au poliurie și elimină în același timp cantități mari de glucoză). Greutatea specifică a urinei poate oscila între 1 001—1 035, fiind dependentă de cantitatea de substanțe

dizolvate. În condiții patologice, rinichiul poate pierde capacitatea de concentrare cu scăderea densității (hipostenurie). Pierzînd apa și capacitatea de diluare, densitatea urinei oscilează în jurul valorii de 1 010 (izostenurie) corespunzătoare densității singelui dealbuminat. Densitatea poate fi măsurată prin următoarele procedee: cu picnometrul (balanța Mohr-Westphal) sau în practica obișnuită cu urodensimetrul (areometru special) gradat pentru intervalul 1 000—1 040, calibrat la temperatura de 15°C. Dacă temperatura urinei diferă de aceea de calibrare se face o corecție, numai dacă diferența de temperatură în plus sau în minus, depășește 3°C.

Densitatea variază în paralel cu scăderea punctului de înghețare a urinei. Acesta este determinat prin crioscopie (Beckman) cu fixarea așa-numitului „delta“, proporțional cu presiunea osmotică datorată, în special, clorurii de sodiu și ureei. Delta crioscopică oscilează între 0,59°C și 2,24°C.

Viscozitatea urinei oscilează între 1,02—1,20, tinzînd către limita superioară cînd urina conține elemente patologice (albumină, singe, leucocite sau cilindri).

Tensiunea superficială în valoare de 64—69 dine, este mai mică decît a apei și scade în prezența substanțelor tensioactive, de tipul acizilor biliari, proprietate folosită pentru detectarea acestora prin reacția Hay (cu floare de sulf).

#### XIX.8.5. REACȚIA URINEI NORMALE

Aceasta este exprimată obișnuit prin pH-ul său, depinzînd de dietă. O alimentație bogată în proteine scade pH-ul urinar. Pentru un regim mixt obișnuit urina din 24 de ore are reacție ușor acidă, valorile variînd între 5—7, în general, în jur de 5,8. Aciditatea de titrare (stabilită cu soluție alcalină 0,1 N sau prin titrare electrochimică) corespunde în mod normal la 30—40 mvali de ioni H<sup>+</sup>. Ea exprimă valoarea totală a protonilor urinari, inclusiv a celor legați de fosfați și acceptorii organici. Aciditatea urinară este determinată în principal de trei factori: acizii organici eliminați în urină, excreția fosfaților sub formă de fosfați acizi, eliminarea unei fracțiuni importante a acizilor sub formă de săruri de amoniu. Valoarea pH-ului urinar este determinată, în special, de raportul concentrațiilor  $\frac{\text{NaH}_2\text{PO}_4}{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$

#### XIX.9. COMPOZIȚIA CHIMICĂ A URINEI NORMALE

Această compoziție cuprinde atît substanțe organice, cît și substanțe anorganice. În ansamblu, ele sînt prezentate în tabelul XIX.2, ce conține cei mai importanți constituenți ai urinei cu intervalul lor de variație cantitativă în 24 de ore.



## Compoziția chimică a urinei normale

Substanța	Intervalul de variație a concentrației/24 ore
<b>Componente minerale</b>	
<b>Anioni</b>	
Cl <sup>-</sup>	5,0–9,5 g sau 140–200 m vali
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1,4–3,5 g sau 30–75 m vali
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> și HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,5–4,5 g sau 500–140 m vali
<b>Cationi</b>	
Na <sup>+</sup>	2,3–6 g sau 100–260 m vali
K <sup>+</sup>	1,4–3,5 g sau 35–90 m vali
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,4–1,0 g sau 20–60 m vali
Ca <sup>2+</sup>	0,1–0,5 g sau 5–25 m vali
Mg <sup>2+</sup>	0,1–0,5 g sau 5–40 m vali
<b>Componente organice</b>	
Uree (dependentă de aportul de proteine)	20–35 g
Acidul uric (dependent de aportul alimentar)	350–2 000 mg
Creatinina	1–2 g
Creatina	60–150 mg
Aminoacizii	1–3 g
Gluczoza	pină la 200 mg
Corpii cetonici	3–15 mg
Acid γ-aminolevulinic	sub 7 mg
Coproporfirine	sub 280
Uroporfirine	sub 20
Proteine	3–40 mg
Amilaza	100–200 unități/l

### XIX.9.1. COMPONENTE MINERALE

#### XIX.9.1.1. Clorul

Se elimină sub formă de cloruri sau mai ales de NaCl care are un prag de eliminare foarte ridicat : 340 mg la 100 ml ultrafiltrat. Concentrația ionilor de clor urinar este hotărâtă prin regimul alimentar. În regim declorurat resorbția tubulară fiind aproape completă, eliminarea de NaCl este efectiv anulată. Eliminarea poate fi influențată și de aportul hidric și de exercițiul muscular. În condiții patologice concentrația clorului urinar poate înregistra variații corelate cu tulburări ale mecanismului de resorbție tubulară. Acestea se întâlnesc în cursul unor nefrite, în unele boli infecțioase (ca pneumonia) când eliminarea clorurilor scade.

## XIX. 9.1.2. Fosforul

Acest nume (generic) este atribuit radicalilor fosforici. De aceea se spune că fosforul se elimină în urină sub formă de fosfați alcalini și alcalinoteroși sau ca fosfați de amoniu. Cea mai mare parte este constituită de fosfații monometalici. Pragul de eliminare este de cca 2 mg/100 ml. Eliminarea fosfatului anorganic descrește cu vîrsta. Originea fosfaților urinari este dublă : exogenă (alimentară) și endogenă (din degradarea fosfolipidelor și a nucleoproteinelor). Există o legătură strînsă între eliminarea de P și aceea de  $\text{Ca}^{++}$ . Starea de acidoză favorizează liberarea acidului fosforic de origine protidică și eliminarea sa urinară. Excreția de fosfor crește și în unele afecțiuni osoase, ca osteomalacia, precum și în rahitismul renal și hiperparatiroidie.

## XIX.9.1.3. Sulful

Se elimină în urină sub trei forme : sulfatii minerali, esterosulfatii și sulful neutru. Sulful de origine exogenă este în cantitate mică, majoritatea fiind endogen și provenit aproape exclusiv din oxidarea in vivo a sulfului cisteinic sau metioninic. Sulfoconjugarea este unul din mecanismele de detoxifiere a organismului (vezi biochimia ficatului). O parte din sulfatii minerali esterifică fenoli sau alte produse ale putrefacției bacteriene intestinale (indol, scatol). Frațiunea formată din săruri și esteri sulfurici constituie sulfatul acid, iar restul sulfului eliminat reprezintă sulful neutru, ce cuprinde acizii mercapturici, peptide și mucoproteine bogate în aminoacizi cu sulf, precum și produși ai catabolismului lor, mercaptani și sulfuri. Sulful se elimină la un nivel aproape constant (ca și creatinina).

## XIX.9.1.4. Cationii $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$

Așa cum s-a arătat, 99% din ionii de  $\text{Na}^+$  ai filtratului primar sînt reabsorbiți, iar restul se elimină. Eliminarea de  $\text{Na}^+$  depinde în mare măsură de aportul alimentar (ca și a  $\text{Cl}^-$ ). Ea este reglată prin activitatea cortico-suprarenalei. Hormonii corticoizi, în special aldosteronul, stimulează reabsorbția sodiului și o scade pe aceea a potasiului. Excreția de  $\text{K}^+$  este foarte influențată de variațiile echilibrului acido-bazic al organismului și de activitatea anhidrazei carbonice din celulele tubulare. Eliminarea ionilor  $\text{Ca}^{2+}$  și  $\text{Mg}^{2+}$  se modifică în patologia osoasă, sau cînd metabolismul osului este implicat în procesul morbid.



### XIX.9.1.5. Sărurile amoniacale

Eliminate prin urină sînt o măsură a capacității renale de reglare a echilibrului acido-bazic. Excreția urinară a sărurilor amoniacale scade la nefritici.

## XIX.9.2. COMPONENTE ORGANICE

### XIX.9.2.1. Ureea

Este compusul azotat cel mai abundent în urină, reprezentînd 80—85 % din azotul total urinar. Ea este produsul ultim de degradare a proteinelor (vezi cap. IX). Eliminarea este în funcție de vîrstă și de alimentația bogată în proteine. Patologic, se produc hiperazoturii în boli febrile, în diabetul pancreatic, în diabetul azoturistic. Hipoazoturie cu diminuarea excreției ureice se produce prin scăderea ureogenezei hepatice, ca în atrofia galbenă acută a ficatului, ciroză, cancer hepatic în faza terminală, sau prin tulburarea eliminării renale (nefrite acute, nefrite cronice cu azotemie, nefrite toxice mercuriale, saturniene). În stările acidozice o parte din elementele azotate urogene sînt utilizate pentru formarea amoniacului.

Metode de dozare. Se folosesc aceleași variante principale ca pentru dozarea ureei în singe : metoda cu urează și reactiv Berthelot sau cu diacetilmonoximă și ion feric (vezi cap. XIV).

### XIX.9.2.2. Creatinina

Eliminarea creatininei este relativ constantă și total independentă de alimentație. Originea sa metabolică este creatin-fosfatul, cu rol important în contracția musculară. Raportul creatininei urinare și creatina totală tisulară este 2 : 100 (Borsook și Dubnof). Eliminarea creatininei urinare scade în hipertireoză (prin inhibiția fosfocreatinkinazei CPK) și în distrofia musculară progresivă (prin micșorarea sintezei creatininei).

### XIX.9.2.3. Creatina urinară

Este mai variabilă și în concentrație mică la adultul normal (0,060—0,150 g/24 ore). Concentrația sa este mult mai ridicată la copii, la care eliminările urinare pot egala pe acelea ale creatininei. La femeie se observă creșteri

catameniale ale creatinuriei, în timpul sarcinii și în perioada de regresie uterină post-partum. Eliminări crescute ale creatinei în urină se produc și în hipertireoză sau în atrofia musculară.

#### XIX.9.2.4. Acidul uric

Este produsul final al metabolismului purinic. Cantitatea eliminată cuprinde fracțiunea endogenă, de origine metabolică la care se adaugă cea exogenă, alimentară. Se elimină în stare liberă și sub formă de săruri, urații alcalini. Acidul uric este foarte puțin solubil dar prezența sărurilor alcaline — în special a fosfaților — îi mărește solubilitatea. Alcalinizarea urinei prin alimentație bogată în baze fixe (legume) mărește solubilitatea acidului uric prin transformarea sa în urați alcalini solubili. Urina conține o cantitate apreciabilă de acid uric. Această cantitate reprezintă o constantă individuală, ce se menține chiar în cursul unui regim lipsit de purine. Eliminarea orară a acidului uric are o ritmicitate circadiană cu două maxime. O masă abundentă, chiar lipsită de purine, determină o excreție crescută de acid uric. În gută — boală caracterizată prin depunerea uraților în țesuturi, sub formă solidă — eliminarea acidului uric exogen este încetinită. În această boală metabolică, formarea acidului uric este mai intensă decât normal și se consideră că ar rezulta direct din nucleotide, înaintea incorporării lor în acizii nucleici. Tulburarea metabolică se asociază frecvent cu insuficiența funcției renale. În momentul accesului de gută, cu depunerea uraților solizi la nivelul cartilajelor, se produce o creștere a excreției urinare de acid uric endogen, chiar dacă regimul este lipsit de purine. Această descărcare bruscă de acid uric în urină, coincide cu o creștere a depozitării sale la nivelul cartilajelor, producând criza dureroasă de gută. Eliminarea acidului uric poate fi scăzută în insuficiența renală. Unele medicamente scad clearance-ul uraților (acetazolamida, clorotiazida, furosemidul, spironolactona). Tratamentul cu substanțe potențial nefrot toxice (gentamicina, fenotiazina) pot determina hiperuricemii cu scăderea eliminării urinare a acidului uric. Creșteri ale eliminării urinare a acidului uric se produc în stări de hipercatabolism al nucleoproteinelor celulare (tratamente radio-terapice, leucoze, chimioterapia cu busulfan, mercaptopurină, metotrexat, vincristină).

#### XIX.9.2.5. Aminoacizii

În urină se găsesc, în formă liberă, aproape toți aminoacizii care intră în constituția proteinelor, precum și un număr de aminoacizi noi, derivați din cei cunoscuți (Tabel XIX-3). Ordinul de mărime al eliminării, pentru fiecare dintre ei, este cuprins (pentru cei mai mulți) între 5 și 30 mg/24 ore.



## Aminoacizi liberi în urina normală ; concentrație în mg/24 ore

Aminoacidul	Copii (9—24 luni)		Bărbați		Femei	
	Valoare medie	Limite	Valoare medie	Limite	Valoare medie	Limite
Alanina	10	5—15	22	5—32	24	9—44
— $\beta$ -Alanina	0,3	—	6	3—10	3	2—9
— $\alpha$ -Aminoadipic	0,5	—	8	5—13	4	0—13
— $\alpha$ -Aminobutiric	0,3	—	—	—	—	—
— $\gamma$ -Aminobutiric	0,3	—	—	urme	—	urme
— $\beta$ -Aminoizobutiric (BAIBA)	5	0—9	22	6—37	29	10—52
Arginina	0,5	—	6	0—14	4	0—11
Acid asparaginic	—	<4	8	3—29	4	2—11
Asparagină	—	—	—	—	—	—
Citrulină	—	—	—	—	—	—
Cistină	—	—	—	—	—	—
Cistină + cisteină	—	<4	14	3—33	6	0—13
Glutamină	—	—	—	—	—	—
Glutamină + asparagină	25	2—60	73	42—103	62	43—88
Acid glutamic	—	—	—	—	—	—
Glicocol	28	11—42	104	53—189	142	67—312
Histidină	47	15—83	138	20—213	128	79—208
Homocitrulină	10	1—65	—	urme	—	urme
Hidroxiprolina	—	0,8—1,4	—	<0,5	—	<0,5
Izoleucina	—	<4	15	8—24	10	5—20
Leucina	—	<4	11	6—20	9	2—16
Lizina	10	1,5—20	7	0—14	8	0—16
Metionina	—	<5	7	5—11	5	3—12
1-metilhistidina	9	0—43	73	22—114	65	26—155
3-metilhistidina	—	<5	65	35—87	48	30—69
Ornithina	—	<4	1	0—4	2	0—11
Fenilalanina	—	<5	13	8—15	13	6—41
Prolina	0,3	—	—	—	—	—
Serina	10	7—13	42	27—65	37	22—61
Taurina	7	2—14	123	44—231	87	27—161
Treonina	6	3—9	17	2—35	23	5—33
Triptofanul	—	—	21	10—32	16	5—27
Tirozina	—	<5	19	7—27	15	9—26
Valina	0,3	—	10	4—17	6	0—30

(După tabele Geigy, reprodus de Gerhard Müller)

Urina normală poate să conțină 1—3 g aminoacizi. Un procent ridicat al aminoaciduriei (85%—89%) este reprezentat prin 9 aminoacizi: glicocolul, histidina, 1-metilhistidina, glutamina, serina, 3-metilhistidina, alanina, acidul  $\beta$ -aminoizobutiric (BAIBA). În mod constant se găsește: glicocolul, tirozina, leucina, histidina, preponderenți cantitativ fiind: glicocolul (cca 140 mg/24 ore), histidina (cca 210 mg/24 ore), taurina (peste 100 mg/24 ore). Prin procedee microbiologice, cromatografice și electroforetice s-au pus în evidență și aminoacizii derivați din cei care intră în constituția proteinelor (menționați mai sus). Se găsește și unii aminoacizi în stare combinată, ca glicocolul în acidul hipuric, prolina și hidroxiprolina în stare de dipeptide sau tripeptide, glutamina

ca fenilacetilglutamină. Se poate determina clearance-ul diferiților aminoacizi ce pot fi clasificați, în trei categorii, din acest punct de vedere. O primă categorie cu clearance 2 ml pe minut cuprinde: histidina, taurina, glicocolul, serina, acidul aspartic, care au concentrația urinară superioară celei plasmatică. O altă categorie: arginina, lizina, alanina, leucina, valina, prolina au clearance-ul de 1 ml/minut și ca urmare o concentrație urinară de două ori mai mică decât cea plasmatică. Un al treilea grup cuprinde tirozina, izoleucina și cistina. Acest grup are un clearance intermediar.

Influența alimentației asupra aminoaciduriei este fragmentar cunoscută. Abundența proteinelor alimentare determină creșteri urinare ale eliminării histidinei, treoninei, lizinei și tirozinei. În stări de denutriție în urină cresc concentrațiile taurinei și acidului  $\beta$ -aminoizobutiric (BAIBA). Se cunosc și variații de excreție ale acestui ultim aminoacid, provocate prin iradiere sau ca efect al dereglării controlului genetic (sugerate de Harris și contestate de alți autori). Existența acidului  $\beta$ -aminoizobutiric, provenit dominant din timină și mai puțin din valină, este semnalată prin prezența așa-numitului spot „T” în cromatograma urinară. După Harris 10% din subiecții ce aparțin populațiilor necolorate, sînt purtători ai spotului „T”.

Metodica de studiu și cercetare, cit și cea aplicată în practica de chimie clinică — în special în pediatrie — se bazează pe cromatografie în strat subțire (plăci cu celuloză, sau folii de aluminiu) sau cromatografie pe hirtie, variantă verticală — ascendentă, descendentă, bidimensională sau circulară.

Ca variații patologice avînd drept criteriu de clasificare mecanismul fiziopatologic, independent de cauză — aminoaciduriile crescute se pot grupa în: a) aminoacidurii renale, prin tulburare de reabsorbție tubulară, cu nivel sanguin normal; b) aminoacidurii prerenale (de revărsare) cu nivel de concentrație sanguină și eliminări urinare crescute. În funcție de cauză, aceste tipuri de tulburări pot fi înnăscute sau dobîndite. Se cunosc aminoacidurii globale sau izolate privind un aminoacid sau grupuri de aminoacizi. Problema erorilor înnăscute ale metabolismului aminoacizilor se pune totdeauna la copiii ce prezintă întîrzieri în dezvoltarea corporală și mintală. În aminoaciduriile globale, tulburarea este de multe ori asociată cu defecte de resorbție și a altor componente. Ca prototip al acestor sindroame poate fi luat sindromul Toni-Debré-Fanconi. Se cunoaște și în forma congenitală idiopatică, ce poate îmbrăca tipul sindromului Lowe, cu cataractă congenitală.

Acest diabet glucozo-fosfato-aminat este caracterizat printr-un tablou umoral exprimat de: hiperaminoacidurie masivă și globală, glicozurie constantă, hiperfosfaturie majoră (clearance fosfatic ridicat), proteinurie redusă dar aproape constantă; în sânge, glicemie normală, fosforemie scăzută, fosfataza alcalină crescută, aminoacidemie normală, acidoză metabolică. Sindromul poate să apară și ca manifestare secundară, în cadrul altor sindroame congenitale, cu tulburare extrarenală a metabolismului ca: cistinoza sau tezaurosismoza cistică, boala Wilson (degenerescența hepato-lenticulară) galactozemia, intoleranța ereditară la fructoză, diferite glicogenoze.

În patologia dobîndită se cunosc forme benigne și reversibile ale sindromului Toni-Debré-Fanconi ce pot să apară în nefroze, hipersensibilitatea la vitamina D sau în intoxicații cu metale grele (Pb, Cd). Tulburările înnăscute ale metabolismului acizilor aminați sînt redată în capitolul IX.



### XIX.9.2.6. Acizii organici

În urină se elimină și compuși organici neazotați ca numeroși acizi organici alifatici, ce se găsesc însă în concentrații mici. Aceștia pot fi acizi grași cu greutate moleculară mică — acid formic, acetic, butiric — diacizi — ca acizii : oxalic, succinic, glutaric și adipic. De asemenea sînt eliminați și acizii-alcooli, cu important rol metabolic ca acizii : gliceric, malic, citric. Proveniența acidului oxalic — cu importanță în patologia renală — este încă discutată. Unele ipoteze îi atribuie ca sursă oxidarea zaharurilor și acidul ascorbic. Experiențe cu glicocol marcat au demonstrat că acest aminoacid este principalul precursor al acidului oxalic. Acidul oxalic este prezent în urina normală în cantități de ordinul mg. Se găsește în special, ca oxalat de Ca care la pH-ul slab acid al urinei precipită în forme caracteristice ce apar la microscop ca „plic de scrisoare“ (de cele mai multe ori). Cantitatea de acid uric urinar poate să crească sub influența alimentației sau a unor tulburări metabolice. În patologia clinică se cunosc asociațiile dintre diateza oxalică și cea urică. Ambele conduc la depunerea de calculi, cu predominanță oxalică sau uratică, rareori pur oxalici sau uratici. Calculii oxalici sînt alcătuiți din cristale aciculare care fac ca litiaza oxalică să fie foarte dureroasă (eliminarea calculilor). Sărurile de Mg și fosfatul disodic favorizează solubilizarea oxalatului de Ca. Acest fapt are unele aplicații terapeutice.

În alimentația subiecților cu diateză oxalică este recomandabil să se reducă alimentele ce pot constitui o sursă de acid oxalic : măcriș, spanac, ceai, cafea, fasole verde.

Dintre  $\alpha$ -cetoacizii eliminați în urină, doi sînt investigați în chimia clinică : acidul piruvic și acidul  $\alpha$ -cetoglutaric, acesta din urmă fiind în concentrație mai mare decît primul. Acești acizi pot fi dozați în chimia clinică colorimetric, pe baza reacției cu 2,4-dinitrofenilhidrazină, cu formarea hidrazonelor respective în mediu alcalin. Acestea se separă cromatografic (pe hîrtie) iar eluatele spoturilor se colorimetrează.

Acizii aromatici și heterociclici se găsesc în urină ca urmare a proceselor de detoxifiere, prin conjugare la nivelul ficatului și rinichiului (Cap. XVI, XVII). Dintre toți acizii organici ce se elimină în urină, o mențiune specială, legată de rolul lor în patologie, trebuie făcută pentru acidul oxalic și pentru  $\alpha$ -cetoacizi.

Acidul glucuronic apare în urină conjugat cu substanțe, în general aromatice, formate în procesul de detoxifiere (vezi cap. XVI). Acidul hipuric, rezultat din conjugarea glicocolului cu acidul benzoic se elimină în urină în cantități de 0,5—0,7 g/24 ore, în funcție de alimentație și de medicație. În urina normală se pot găsi toți produșii rezultați din procesele de detoxifiere.

## XIX.10. HORMONI, VITAMINE, ENZIME

Din urină s-a izolat un număr mare de hormoni și derivați ai hormonilor sexuali și corticosuprarenali, care la nivelul ficatului sau rinichiului sînt transformați în sulfo- sau glucuronoconjuugați ce se elimină prin urină. Cu deosebită importanță diagnostică pot fi menționați unii hormoni și derivații lor : adrenalina, noradrenalina, steroizii, gonadotropina, serotonina. Dintre deri-

vații hormonali cu importanță în patologia umană, pot fi semnalati următorii: acidul vanil-mandelic derivat din catecholamină (a cărei concentrație crește în feocromocitom), 17-cetosteroizi și 17-hidroxiketosteroizi derivați din hormonii steroizi, acidul 5-hidroxi-indol-acetic, derivat din serotonină (cu valoare diagnostică în carcinoid). Corio-gonadotropina-HCG (Human chorionic gonadotropin), este deosebit de importantă pentru diagnosticul sarcinii. Metodologia aplicată pentru dozarea acestor componente se bazează pe fluorimetrie, procedee biologice, cromatografice și radioimunologice care se execută în laboratoare de strictă specialitate. Pentru acidul vanil-mandelic, dozabil în toate laboratoarele de chimie curentă, se poate aplica metoda chimică bazată pe extracție AVM — în solvenți organici — urmată de oxidarea sa cu periodat de Na pentru convertirea în vanilină, ce se termină spectrofotometric la 340 nm. Acidul 5-hidroxi-indol-acetic se detectează în extractul de urină în solvenți organici, prin reacția de culoare cu 1-nitrozo-2-naftol și nitrit de sodiu, a cărui intensitate poate fi măsurată la 540 nm.

Vitaminele. Unele vitamine, a căror eliminare este dependentă de aportul alimentar, pot fi dozate în urină prin procedee chimice. Ele sînt: vitamina B<sub>1</sub> și vitamina C a căror concentrație poate fi apreciată orientativ prin reacția de culoare cu diclorfenol-indofenol. Trebuie menționat că dozarea izolată a unei vitamine în urină nu permite concluzii judicioase asupra carenței acesteia și a gradului atins. Sînt necesare probe de supraîncărcare pentru a se putea aprecia rezervele organismului explorat.

Enzimele. În mod normal se găsesc în urină numai acele enzime a căror greutate moleculară este mai mică de 60 000, ca de exemplu lizozimul (g.m. 11 450—14 500) și amilaza (g.m. 45 000). Dintre acestea cea mai explorată este amilaza, cu cele două izoenzime ale sale, salivară și pancreatică, ambele cu orientare catodală, după electroforeza în gel de agar sau în gel de amidon. Ultima are mobilitatea electroforetică mai lentă decît prima. Vizualizarea izoenzimelor în zimogramă se realizează fie prin reacția de culoare iod-amidon, fie prin reacția zaharogenică, folosind reactivi enzimatici (glucozoxidază, maltază, peroxidază și un cromogen tip ortotolidină), fie cu pastile de amidon cuplat cu un colorant, de felul pastilelor (Phadebas-Amylase-Test). Variații importante în patologie se întîlnesc în pancreatita acută și în parotidita urliană (creșteri). În nevrite și cancerul de pancreas se observă scăderi. În urină se explorează și uropepsina, după activarea uropepsinogenului cu acid clorhidric. Muramidaza sau lizozimul a stîrnit, în ultimul timp, un interes deosebit în patologia clinică, prin variațiile înregistrate în unele hemopatii maligne (leucoze) și în nefropatii cronice (nefropatia endemică). Recent se explorează în urină triada enzimatică: lizozim,  $\beta$ -glucuronidază, alaniminopeptidaza-AAP (Haschen).

Din punct de vedere al metodei\*, toate componentele urinei normale se evaluează prin procedee aplicate și în biochimia clinică a singelui (de cele mai

\* Pentru a se putea trage concluzii valabile asupra componentelor urinare, în special asupra celor patologice, se recomandă să se respecte cu strictețe regulile de prelevare și conservare a urinei. Investigațiile cantitative ale componentelor patologice (în special albumină și glucoză) detectate în urină, se practică în fracțiuni de urină preluate din cantitatea colectată în 24 ore sau din emisiuni separate de la anumite intervale din zi, pentru a se stabili debitul fracționat sau ritmul circadian al eliminării acestora. Pentru conservarea urinei — cu prevenirea contaminării cu microorganisme, ce pot altera componentele — se recomandă păstrarea la 4°C sau adăugarea anumitor substanțe ca: timol (soluție în izopropanol), cloroform, toluol, metil-4-hidroxibenzoat, HSO<sub>4</sub>.



multe ori cu diluția prealabilă) și prezentate principal în capitolul XIV. În cazurile speciale s-a indicat principiul metodei de investigație cu aplicare strict în explorările ce se execută numai în urină.

## XIX.11. COMPONENTE ANORMALE ALE URINEI

Granița dintre constituenții normali și cei patologici ai urinei este destul de elastică : pentru unii dintre ei, chiar dintre cei mai importanți în patologia renală și cea metabolică — ca proteinele și glucoza —, diferența ține de gradul de eliminare și nu de natura substanței.

### XIX.11.1. GLUCIDELE. DIAGNOSTICUL UNEI MELITURII

În urină se găsește mici cantități de diferite oze ca : glucoza (până la 200 mg/24 ore), fructoza, manoza (5—20 mg/l), arabinoza, xiloza (30—100 mg/l), fructoza, ramnoza, galactoza și riboza, în urme. Prezența acestora conferă urinei o slabă capacitate reductoare, detectabilă chiar în probele curente de oxido-reducere, dar mai ales prin fermentație sau cromatografie în strat subțire. O denumire generică dată prezenței acestor glucide în urină este aceea de meliturie.

Glucoza este glucidul cel mai important și cel mai frecvent întâlnit în patologia clinică. Glucozuria ridicată (uneori peste 100 g/24 ore), este corelată de obicei cu hiperglicemia, ca în diabetul zaharat (pancreatic). Cantitatea de glucoză din ultrafiltratul glomerular depășește capacitatea de reabsorbție tubulară. Se întâlnesc destul de numeroase cazuri de glucozurie, fără hiperglicemie, determinate prin tulburarea procesului de reabsorbție tubulară ca în diabetul renal\* sau în glucozuria din tulburările înnașcute ale aminoacizilor. Glucoza se identifică și se dozează prin :

a) Proba de oxido-reducere. Cel mai frecvent acestea sînt efectuate cu reactiv cupric-alkalin, care dă naștere oxidului cupric, din care se formează oxidul cupros, galben cărămiziu. Reducerea este datorată funcțiilor aldehidă și alcool din molecula de glucoză. Reducerea se petrece la cald.

Din această categorie fac parte reacțiile Fehling și Benedict. Dozări orientative — bazate pe același principiu — cu aplicare în triajul analizelor de urină, cit și în autosupravegherea bolnavului (diabeticii în special) se pot face cu tablete de Clini-Test-Ames sau cu hîrțiile reactive, produse de Laboratorul Galenica OF1-București. Un alt oxidant folosit în dozările de urină este  $\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_3$  — fericianura de potasiu (metoda Ionescu-Matiu).

\* Experimental, se obține glicozurie fără hiperglicemie.

b) Oxidarea enzimatică cu glucozo-oxidază. Glucoza se transformă sub acțiunea enzimei în acid gluconic, cu producere concomitentă de  $H_2O_2$ . Peroxidaza prezentă în sistem, descompunere  $H_2O_2$  cu oxidarea unui cromogen — tip ortotolidină (se produce culoarea albastră-violet). Principiul este aplicat atât pentru dozări exacte, cât și pentru detectări orientative, prin teste rapide, de tip Clinistix-Ames.

Pentozele apar în urină, fie provenind din alimentație, fie în pentozuria esențială, anomalie metabolică ereditară inofensivă, cu eliminare de arabinoză racemică. Se detectează prin reacția Bial, cu orcinol.

Fructozuria se produce fie prin exces alimentar, fie ca viciu metabolic în-născut, benign, fie ca intoleranță la fructoză. Acesta este un viciu metabolic, recesiv, autosomal, în care mici cantități de fructoză alimentară provoacă hipoglicemie și leziuni hepatice. Se detectează prin reacția cu rezorcină.

Lactozuria apare în cursul sarcinii, în perioada de lactație și la înfărcare, în urina mamei; se poate găsi și la sugar. Se detectează prin reacția Wöhlk adică prin culoarea roșie pe care o dă la  $60^\circ$ , prin încălzirea cu hidroxid de potasiu și amoniac. Se poate caracteriza prin ozazona respectivă.

Galactozuria apare în aceleași condiții ca și lactozuria. Se detectează prin oxidare în acid mucic.

Acidul glucuronic, deși nu este un produs patologic, apare în urină în condiții speciale, legate de procesul de detoxifiere. Se detectează prin încălzire cu naftorezorcină, în mediu acid (HDI), cu apariția unui compus de culoare albastră. Detalii tehnice privitoare la reacțiile de detectare menționate se pot găsi în „Metode de laborator de uz curent“.

## XIX.11.2. PROTEINELE

Proteinuria fiziologică. După unii autori, este cuprinsă între 20—90 mg/24 ore, limitele fiind și mai largi. După alți autori, proteinuria fiziologică ar fi cuprinsă între 24—133 mg. Termenul mai vechi — impropriu — dar încă folosit în practică pentru a se indica prezența proteinelor în urină — este acela de „albuminurie“. Proteinuria este caracterizată în general, prin prezența în urină a proteinelor identice cu cele din plasmă. S-au separat electroforetic și imunoelectroforetic: prealbumină, albumină, orozomucoid,  $\alpha$ -1-anti-tripsina,  $\alpha$ -1-lipoproteina,  $\alpha$ -2-G<sub>c</sub>-globulina, transferina, hemopepsina, al patrulea component al complementului  $\gamma$ -A și  $\gamma$ +G-globuline.

Proteinuria patologică renală. Se cunosc două tipuri principale:

### XIX.11.2.1. Proteinuria de tip tubular

Se întâlnește în nefropatiile cu atingere tubulară sau interstițială. În aceste cazuri, urina conține proteine plasmatică și proteine provenite din secreția sau denaturarea proteinelor la nivelul tubilor renali. Aceste proteine au o greutate moleculară mică. Imaginile electroforetice (pe hirtie și mai ales



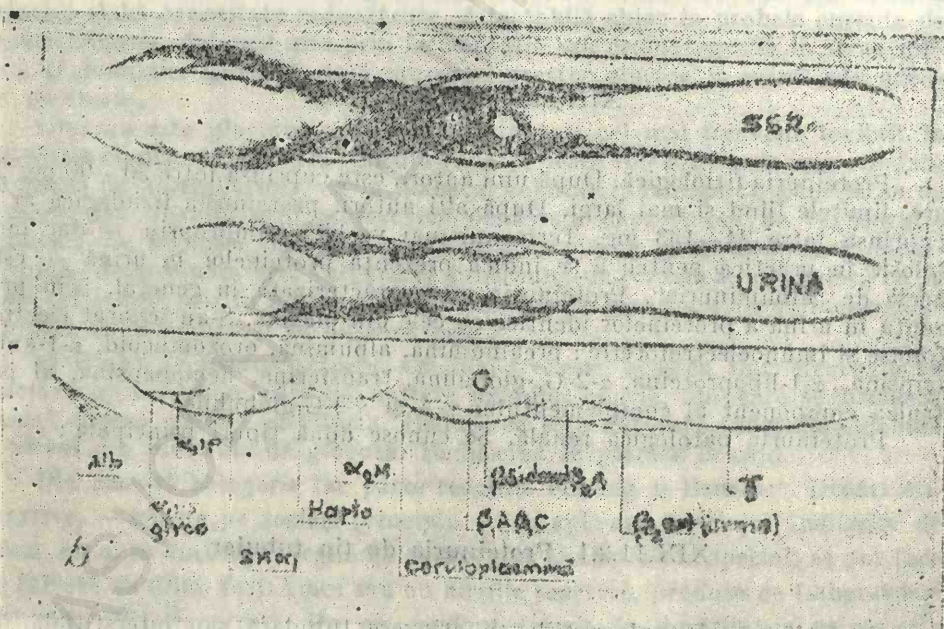
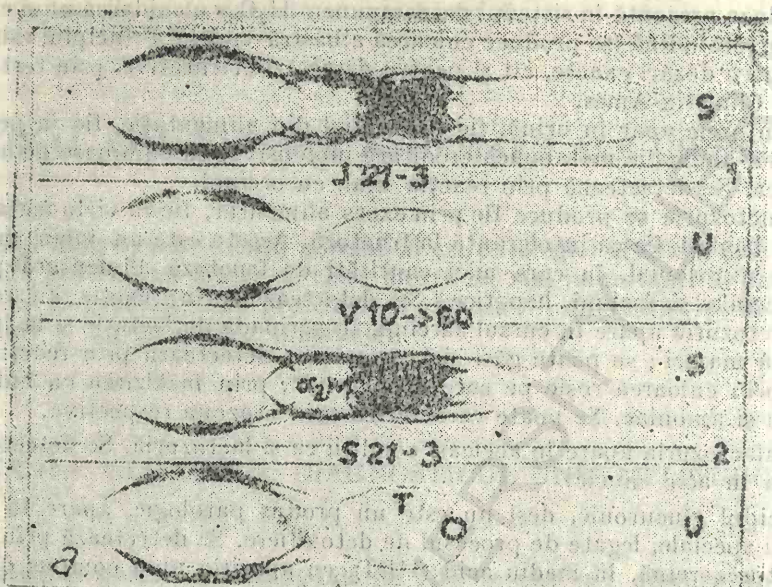


Fig. XIX.12 — Proteinurie selectivă (a) și neselectivă (b) — fotografie.

în gel de amidon) sînt caracteristice. Albumina este în cantitate mică, raportul A/G (albumine-globuline) este mai mic de 0,5. Globulinele  $\alpha_1$  și  $\alpha_2$  sînt preponderente, cu bandă  $\alpha_1$  etalată : citeodată se întîlnesc două fracțiuni  $\alpha_2$  globuline. Se pot întîlni însă și două fracțiuni  $\beta$ , precum și o fracțiune post- $\gamma$ .

#### XIX.11.2.2. Proteinuriile selective și neselective

Corespund, în majoritatea cazurilor, nefropatiilor glomerulare și sînt caracterizate prin prezența exclusivă a proteinelor plasmatice.

Proteinuria selectivă comportă prezența în urină a proteinelor plasmatice, cu greutate mai mică de 90.000 (albumină, siderofilină,  $\alpha$ -1-glicoproteină). Albumina reprezintă mai bine de 80% din proteinele urinare (fig. XIX.12 a)

Proteinuria neselectivă cuprinde toate proteinele plasmatice, chiar cele cu greutate moleculară ridicată. Aspectul electroforetic și imunoelectroforetic al proteinelor urinare, în această situație, este foarte apropiat de cel al proteinelor serie (fig. XIX.12 b).

#### XIX.11.2.3. Paraproteinurie

În situații speciale — sindroame proliferative ale sistemului imun (Cap. XX) —, apar în urină proteine. Ele sînt globuline, aparținînd sistemului de imunoglobuline, formate fie din lanțuri ușoare (kapa și lambda) izolate (proteine Bence-Jones), fie din lanțuri polipeptidice complexe, aparținînd familiilor IgG, IgA în mielomul multiplu sau grupul IgM în boala Waldenström. Nu se știe dacă paraproteinele sînt globuline cu structură anormală, sau dacă ele reprezintă o populație moleculară restrînsă de imunoglobuline normale, produse în cantitate mare. În opoziție cu imunoglobulinele normale caracterizate prin heterogenitate, paraproteinele sînt omogene, caracterizate prin prezența unui singur tip antigenic de lanțuri ușoare și printr-o specificitate antigenică individuală.

Proteinele Bence-Jones se caracterizează prin termosolubilitate (precipită la 55—70°, se redizolvă între 80—100° — reprecipită prin răcire). Imaginea imunoelectroforetică este redată în fig. XIX.13.

Proteinele urinare se explorează prin : a) mijloace de detectare, la rece cu acid sulfosalicilic, cu acid azotic-azotos (Heller), sau prin fierbere și acidulare. În laboratoarele de chimie clinică modernă se utilizează așa-numitele „teste rapide“ de tip albustix (Ames), printre care se pot menționa și cele pro-

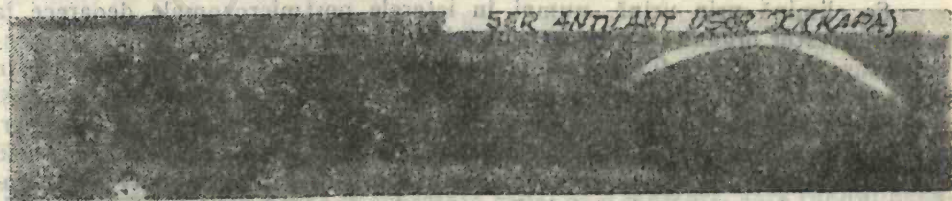


Fig. XIX.13 — Imagine imunoelectroforetică de proteinurie Bence-Jones cu lanț  $\lambda$  (fotografie).



duse de Laboratorul Galenic OF1 București. Stixurile reactive au un capăt impregnat cu albastru de tetrabrom-fenol și un tampon acid. Înainte de folosirea stixurilor, urina se acidulează, dacă pH-ul său intră în zona alcalină.

b) Ca mijloace de dozare se folosesc procedee orientative — metoda diluțiilor — Heller, metoda Esbach (cu reactivi acid picric — acid citric); ca mijloc de dozare exactă se folosește metoda biuretelui aplicată direct în urină sau pe precipitatul obținut cu acid percloric 70% din urinele ce conțin cantități mici de proteine.

c) Ca mijloace de studiu (cantitativ și calitativ) se folosesc procedee electroforetice, imuno-electroforetice (aplicabile după concentrarea urinei la nivelul de 3—4 g%), procedee imunochimice cu seruri monospecifice incluse în geloză (procedeeul Mancini). Se aplică și cromatografia pe coloane de schimbători de ioni (DEAE celuloză), sau filtrare în gel de Seohadex 200, pentru separarea fracțiunilor proteice, în funcție de greutatea lor moleculară. Limitele patologice ale proteinelor sînt foarte largi, de la 150 mg pînă la cîteva zeci de game (în nefroze) pentru un litru de urină.

### XIX.11.3. ENZIMELE

Cele cu greutate moleculară mai mare de 60 000 daltoni (LDH și izoenzimele sale, fosfataza alcalină, GPT, GOT, aldolaza) se elimină prin urină numai în condiții patologice. Unora dintre acestea li s-a atribuit o valoare diagnostică în neoplazii ca de ex. LDH<sub>3</sub> și  $\beta$ -glucuronidaza. Rezultatele sînt însă nesigure (Dubach). O mare dificultate a explorărilor enzimatiche urinare o constituie necesitatea dializei prealabile a produsului pentru îndepărtarea numeroșilor efectori prezenți în acest mediu biologic complex.

### XIX.11.4. ELEMENTE BILIARE (PIGMENTI ȘI ACIZI BILIARI)

#### XIX.11.4.1. Bilirubina directă

Se elimină prin urină, numai în icterele postmicrozomale deoarece la nivelul acestor organite ale hepatocitului se face glucuronoconjugarea pigmentului care astfel poate fi eliminat prin rinichi. Bilirubina poate fi detectată în urină prin reacția de oxidare în biliverdină (verde), purpurinea (violet) și colelitine (albastre). Se realizează practic prin reacția cu iod, reacția Popper, reacția Rosin, reacția cu NO<sub>3</sub>H-G melina, cu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Grimbert, cu FeCl<sub>3</sub>-acid trichloracetic-Fouchet, cu amestec bicromic-Ionescu Matiu. Recent, s-a introdus pentru detectare principiul de azocuplare cu 2,6-diclorbenzoldiazoniulfuorborat, în mediul acid (culoare violet). Se pot aplica teste rapide bazate pe

acest principiu ca de ex.: Ictotest, Ames-Ictostix, Ames-Bilurtest (Boehringer). Testul rapid al Laboratorului Galenic OF1 București se bazează pe utilizarea unor impregnate cu clorură de bariu pe care se depune o picătură din urina de cercetat. După uscare se aplică o picătură de revelator (reactiv Fouchet, acid tricloracetic +  $\text{FeCl}_3$ ).

#### XIX.11.4.2. Urobilinogenul și urobilina (bilane și bilene)

Urobilinogenul produs prin reducerea bacteriană a bilirubinei în intestin, este parțial resorbit și degradat în ficat, iar restul se elimină prin urină. Se detectează fie prin reacția Ehrlich, cu paradimetilaminobenzaldehidă în mediu acid, fie prin azocuplare (cu 4-metoxi-benzol-fluorborat) în mediu acid (culoare roșie). Se utilizează teste rapide (stixuri) bazate pe ambele principii de reacție (Boehringer). Căutarea urobilinogenului se aplică împreună cu aceea a bilirubinei, pentru testarea funcției hepatice, în diagnosticul diferențial al icterelor, în stările hemolitice, pentru trierea donatorilor de sânge, ca test în programele de „screening” și de prevenire primară activă a cronicizării bolilor hepatice (pe loturi mari de populație). Principalele posibilități de reacție sînt sintetizate în tabelul XIX.4.

Tabelul XIX.4

Componentul urmărit	Subiect normal	Boală hemolitică	Boală hepatică	Obstrucție biliară
Urobilinogen urinar	Normal	Crescut	Crescut	Scăzut
Bilirubina urinară	Negativ	Negativ	Positiv	Positiv

Urobilina, produs de oxidare al urobilinogenului, se explorează prin fluorescența verde pe care o dă complexul Zn-urobilină în soluție alcoolică (reactivul Schlessinger: soluție alcoolică de sulfat de Zn). Are aceeași semnificație patologică pentru afecțiunile hepatice și anemiile hemolitice, ca și urobilinogenul.

#### XIX.11.4.3. Acizii biliari

Substanțe tensioactive, se testează în urină prin procedeul Hay, cu floare de sulf; pulberea presărată la suprafață cade, ca o ninsoare, spre fundul paharului sau al eprubetei cu urină.



### XIX.11.5. PIGMENȚII SANGUINI

Se detectează în urină fie în hematurii microscopice (prezență de hematii în sedimentul urinar) sau macroscopice, ce pot să apară în unele afecțiuni renale și în general în afecțiuni urologice, fie în hemoglobinurii (hemoliză intravasculară fără hematii în sediment). Testarea are la bază proprietatea pseudoperoxidazică a hemoglobinei ce descompune  $H_2O_2$  sau peroxid organic, cu oxidarea unui cromogen, ce se colorează prompt (benzidina în reacția Adler, culoare albastră; fenofitaleina în mediu alcalin — reacția R. Mayer, culoare roșie; piramidonul în soluție alcoolică culoare violet). Testele rapide de tip occultest Ames (tablete) sau Hemastix Ames (stixuri), Reagnost-Hemoglobina (tablete) — VEB Feinchemie și altele, folosesc același principiu de reacție. Testul pentru detectarea pigmentilor sanguini, elaborat de Laboratorul Galenica OF1 București, folosește peroxidul de Ba și ortotoluidinul (cromogen) — culoare albastră).

### XIX.11.6. PORFIRINELE

În urina adultului normal se elimină zilnic 50—200  $\mu g$  de porfirine (coproporfirine I și II). Creșterea acestei eliminări, cât și apariția — în unele forme — a uroporfirinuriei constituie porfiria.

Porfiriile se împart în secundare (coproporfinuriile fără eliminare de uroporfirine și porfobilinogen dar cu acid  $\delta$ -aminolevulinic crescut, ca în saturnism, de ex.) și porfirii esențiale (porfirie eritropoietică congenitală sau boala Günther), în care urinale de culoare roșie conțin coproporfirine I — cantități de ordinul sutelor de mg — cu eliminare posibilă de uroporfirină III și coproporfirină I. Din această categorie fac parte și următoarele afecțiuni: porfiriile hepatice, porfirie cutanee tardă, coproporfirie ereditară. În porfiriile hepatice criza de porfirie acută este însoțită de eliminarea de porfobilinogen (peste 100 mg) și de acid  $\delta$ -aminolevulinic (cantități de ordinul zecilor de mg). Imediat după emisiune, urina conține uroporfirină III, iar după ceva timp apare și uroporfirina I. În plus se observă o eliminare moderat crescută de coproporfirine cât și prezența de porfirine cu 3, 5, 6, 7 grupări carboxilice. În porfirie cutanee tardă se produce o creștere a uroporfirinelor, uneori cu preponderența celor de tip I, precum și a coproporfirinelor, porfobilinogenul rămânând în limite normale. În porfirie mixtă sau „variegată” tulburarea de eliminare a coproporfirinelor este mai evidentă în fecale, deși în cursul sindromului acut se observă o creștere accentuată a porfobilinogenului și a uroporfirinelor. Se cunoaște și o porfirie ereditară, caracterizată prin eliminări crescute de coproporfirine în urină și fecale.

Porfiriile se detectează în urină prin fluorescența roșie pe care o prezintă în U. V. Coproporfirinele pot fi separate de uroporfirine, pe baza solubilității lor în eter, în mediu acid. Uroporfirinele solubile în eter, se extrag în faza apoasă, printr-un amestec acid acetic-acetat de etil. Separarea lor se poate

face și electroforetic (pe hîrtie, la pH 8,6), deoarece uroporfirinele ce conțin 8 grupări COOH în moleculă, migrează către anod mai mult decît coproporfirinele ce conțin numai 4 grupări COOH.

Separarea izomerilor coproporfirinelor I și III și a uroporfirinelor I și III se face prin procedee cromatografice de partiție.

Dozările de copro- și uroporfirine se face fluorimetric sau spectrofotometric la 400—410 nm.

Porfobilinogenul se detectează în urină prin culoarea roșie pe care o dă cu reactivul benzaldehidic Ehrlich, compusul de culoare roșie rezultat nefiind extractibil în cloroform, spre deosebire de cel dat de urobilinogen.

Acidul delta-aminolevulinic se poate determina în urină, fie după o separare pe schimbători de ioni, fie după condensarea sa la cald cu ester etil-acetic la pH 4,6, cu formarea unui complex pirolic. Acesta se extrage în acetat de etil și se transformă într-un complex roșu cu 4-dimetil-aminobenzen-aldehidă colorimetrabil la 560 nm.

### XIX.11.7. CORPII CETONICI

După cum s-a menționat, corpii cetonici sînt următorii compuși: acid acetilacetic (prezent în urina normală în cantități de ordinul cîtorva mg), acidul  $\beta$ -hidroxibutiric (cîteva centigrame/l și în urina normală) și acetonă. Cei doi acizi se elimină prin urină în cantități mari, în stări de acidoză. Acetona se formează prin decarboxilarea acidului acetilacetic.

Excreția urinară a corpilor cetonici crește în diabet și în general, în tulburările metabolismului glucidic, în stări de hiperactivare a metabolismului lipidic, în inanție, după anumite anestezii, în anumite varietăți de acidoză și în sarcină. În urină se practică următoarele două reacții: una pentru detectarea acetonei — de altfel singura practică în mod curent, iar cealaltă pentru acidul acetilacetic. Pentru acetonă se aplică diferite variante ale reacției cu nitroprusiat de sodiu în mediu alcalin, cu producerea unui compus de culoare violet. Se cunosc și se aplică următoarele variante: R. Legal (cu nitroprusiat de sodiu și amoniac), reacția Rothera (cu sulfat de amoniu și nitroprusiat de sodiu). Acidul acetilacetic reacționează intens la aplicarea acestor metode. Pentru acidul acetilacetic se practică reacția Gerhardt cu perclorură ferică prin care se obține o culoare roșie-bordo, ce dispare prin încălzire. În chimia clinică actuală se aplică teste rapide (comprimate, stixuri sau pulberi reactive) ce au la bază reacția acetonei cu nitroprusiatul de sodiu (Laboratorul Galenic OF1).

### XIX.11.8. ACIDUL FENILPIRUVIC

Prezent în urină în oligofrenia fenil-piruvică, se pune în evidență prin reacția de culoare — verde — pe care o dă cu clorura ferică (reacția Fölling). Reacția poate fi tulburată de bilirubină, derivații de imidazol, acidul vanil-mandelic, acidul 5-hidroxiindolacetic și unele medicamente.



### XIX.11.9. ALCAPTONURIA

Constă în eliminarea de acid homogentizic (2,5-dihidroxifenilacetic) însoțită de excreție crescută de fenilalanină și de tirozină în urină. Urina este întunecată la culoare de la emisiune — brună sau neagră — sau devine astfel după ședere în contact cu aerul sau prin alcalinizare.

### XIX.11.10. MELANINELE

Se elimină în urină în stadii avansate ale melanocitoblastomului. Melanogenele indolice urinare dau cu nitroprusiatul de sodiu, în soluție alcalină, culoare roșie, ce trece în albastru cu acid acetic (reacția Thornmählen).

### XIX.12. SEDIMENTUL URINAR

Se obține prin centrifugarea urinei proaspete la o turație mică (până la maximum 1.000 ture). Este format din *elemente organizate și neorganizate*.

#### XIX.12.1. ELEMENTE ORGANIZATE

Sînt reprezentate prin celule epiteliale din căile urinare, leucocite, cilindroi, cilindrii, care provin din tubii uriniferi (hialini, granuloși, epiteliali, hematici, grăsoși, ciroși) (fig. XIX.14). În tabelul XIX.5 sînt prezentate principalele tipuri de cilindri urinari, caracteristicile lor, precum și condițiile lor de apariție.

#### XIX.12.2. ELEMENTE NEORGANIZATE

De natură organică și minerală, sînt alcătuite din elemente cristaline sau depozite de săruri amorse. Se întîlnesc: acid uric, urați, fosfați, carbonați, oxalați, cristale de cistină, leucină, tirozină, xantină și rareori colesterol.

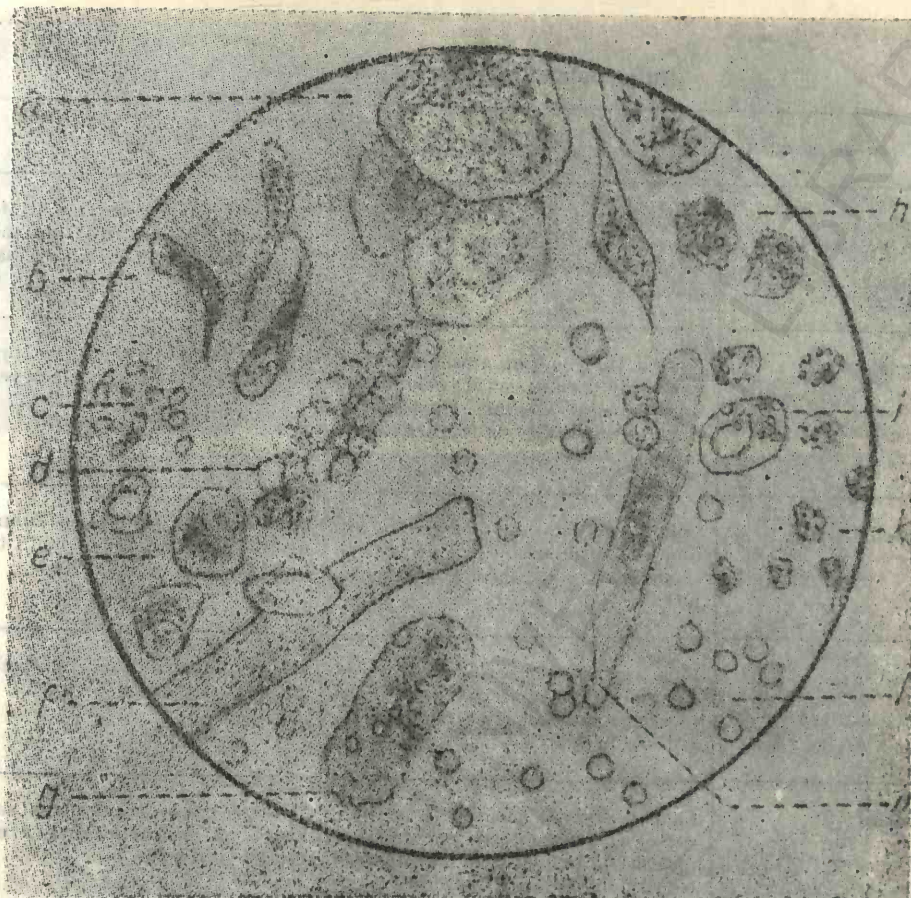


Fig. XIX.14 — Sedimentul urinar organizat (vedere de ansamblu). a) celule epiteliale plate; b) celule epiteliale în rachetă; c) levuri; d) cilindru leucocitar; e) celule epiteliale renale; f) cilindru granulos; g) cilindru grăsos; h) leucocite degenerate; i) celulă cu degenerescență grasă și vacuole; k) leucocite; l) hematii; m) cilindru hialin.

Existența corpurilor birefrigenți, detectați microscopic în lumină polarizată, sprijină diagnosticul de nefroză lipoidică. Pe lângă elementele cristaline de origine metabolică se pot întâlni în urină cristale de origine medicamentoasă, ca de exemplu cele de sulfamidă (fig. XIX.15).

### XIX.12.3. SEDIMENTUL URINAR CANTITATIV

Se practică după trei modalități: metoda directă Stansfeld și Webb, se practică în urina recoltată în condiții bazale, a doua emisiune de dimineață, pe nemincate. Valorile normale: leucocite 0—20 mm<sup>3</sup>; metoda Addis din urina



## Principalele tipuri de cilindri urinari

Tipul de cilindru	Caracteristici	Condiții de apariție
Hialini (sau mucoși)	Scurți avînd contur puțin precis, ocazional forme gigante, translucizi. Se examinează mai bine cu diafragmare.	Atingeri renale ușoare, stări febrile sau chiar în urina normală (după palparea rinichiului) sau în stări de stres
Granuloși	Granulații fine sau grosolane, provenite din degenerescență celulară; uneori includ globule grăsoase pe lângă granulațiile de natură albuminoasă.	Procese renale degenerative, faza terminală a bolilor renale severe
Epiteliali	Celule epiteliale aglomerate în cilindri, nuclei mari, degenerescență granulară sau grăsoasă a protoplasmei	Modificări patologice în tubulii distali colectori, insuficiență tubulară acută, pielonefrite
Ciroși	Lați, conturați perfect, mați de culoare ușor gălbuie, prezintă creștături caracteristice pe margini, rezistenți la acizi	Glomerulonefrită severă, pielonefrită, amiloidoză
Grăsoși	Conglomerat de picături și granule grăsoase, frecvent se pot observa picături de grăsime care supraîncarcă cilindrii hialini sau granuloși	Procese renale cronice sau subacute cu degenerescență a elementelor renale
Pseudocilindrii	Rezultă din aglomerarea de săruri: urați, fosfați; se diferențiază de cilindrii granuloși prin solubilitatea lor în acid acetic 3% sau acizi minerali slabi. Uneori diferențierea între cilindrii granuloși și pseudocilindrii este dificilă	Nu au semnificație patologică
Cilindroiți	Aspect de panglică cu dungă, conturul mai puțin clar, adesea unul din capete este despicat	Nu au semnificație patologică
Eritrocitari	Eritrocite conglomerate din care unele au pierdut pigmentul	Retenția unui număr mare de eritrocite în tubii renali
Leucocitari	Leucocite conglomerate în cilindrii, dintre care unele pot fi alterate sau reduse, la resturi nucleare	Pielonefrită

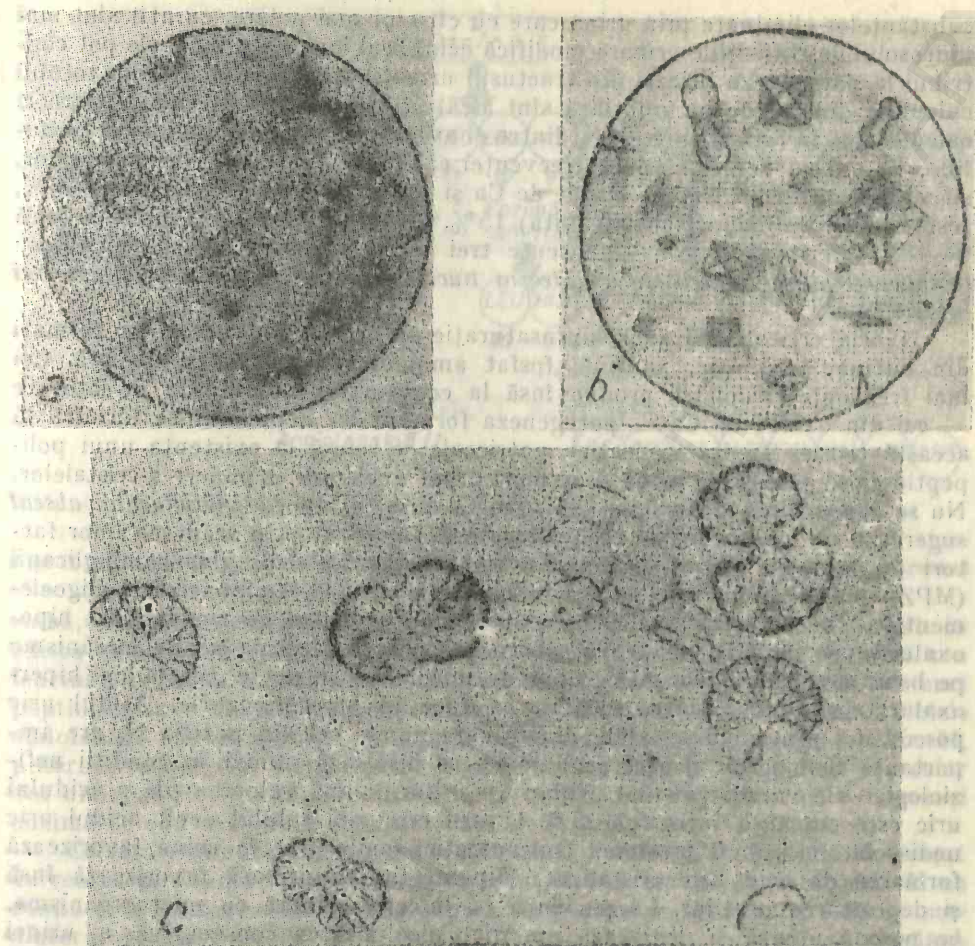


Fig. XIX.15 — Exemple de sediment urinar neorganizat. Cristale de origine metabolică: a) acid uric; b) oxalați; c) cristale de origine medicamentoasă (sulfonamide).

de 12 sau 24 ore, valori normale : hematii pînă la 1 000 000/24 ore, leucocite pînă la 2 000 000/24 ore ; metoda Hamburger cu timpul de recoltare scurtat la 3 ore, valori normale : hematii 100—1 000/minut, leucocite 2 000/minut.

### XIX.13. LITIAZA RENALĂ

Producerea calculilor urinari se realizează prin micșorarea solubilității elementelor neorganizate ale sedimentului urinar, avînd ca rezultat aglomerarea constituenților în „pietre“ ce se formează în tractusul urinar. Concentrația protonilor urinari joacă un rol hotărîtor în disocierea și solubilitatea



substanțelor eliminate prin urină care cu cât sînt mai polare, cu atît sînt mai hidrosolubile. Infecțiile urinare modifică echilibrul ionic, așa încît ele pot contribui la patogeniza litiazei din tractusul urinar. Aproximativ 2/3 din totalul calculilor din nefro- sau urolitiază sînt alcătuiți din oxalați de calciu. Rareori calculii sînt în formă pură, 90% dintre ei avînd mai multe componente cristaline. În ordine descrescîndă a frecvenței calculilor, în funcție de natura lor, situația se prezintă astfel: oxalat de Ca și fosfat de Ca hidroxilapatită 66%, fosfat amoniacomagnezian (struvită) 15%, cistină și urat 10%, apatită pură 0—1%, diferite 9%. Sînt cunoscute trei teorii asupra formării calculilor: *teoria precipitării și cristalizării, teoria nucleației matriceale și teoria absenței inhibitorului.*

Teoria cristalizării prin suprasaturație se aplică bine calculilor formați din cistină, acid uric, xantină, fosfat amoniacomagnezian și apatită. Cei mai frecvenți calculi se produc însă la concentrații sub limita de saturare — cei din oxalat de Ca — patogeniza formării lor neputîndu-se încadra în această teorie. Teoria nucleației matriceale se referă la existența unui polipeptid ce se găsește în urină și ar servi drept nucleu de depunere a cristalelor. Nu se cunosc însă date sigure în această direcție. Teoria *inhibitorului absent* sugerează că fenomenul de cristalizare este favorizat prin scăderea unor factori de inhibiție printre care se numără: pirofosfatul, glucozaminglicanii (MPZ), polipeptidele mici, ureea, magneziul, citratul, aminoacizii și oligoelementele. În calculoza oxalică se pot întîlni — destul de rar însă — hipooxalurii, așa încît se sugerează pentru patogeniza acestuia și alte mecanisme pe baze metabolice. De pildă, lipsa de piridoxină se poate corela cu hiperoxaluria primară. Litiiza urică se produce în hiperuricozurie. Acidul uric posedă doi protoni disociabili, dintre care numai cel din poziția N<sub>9</sub> are importanță fiziologică, deoarece al doilea se disociază numai în condiții nefiziologice ale valorii pH-ului urinar. În urina umană valoarea pK a acidului uric este cuprinsă între 5,3—5,6. Uratul este mai solubil decît acidul uric nedisociat, așa încît creșterea concentrației ionilor H<sup>+</sup> în urină favorizează formarea de acid uric cristalizat. Hiperaciditatea urinară favorizează însă și depozitarea uraților. La pacienții cu infecție urinară cu microorganisme, ce posedă urează și generează amoniac alcalinizarea consecutivă a urinei favorizează formarea calculilor de fosfat amoniacomagnezian.

## XIX.14. ROLUL VASOPRESOR AL RINICHIULUI

Acest organ cu important rol homeostatic îndeplinește și o funcție endocrină. Cortexul renal — mai ales în stare de ischemie — secretă la nivelul celulelor justaglomerulare o enzimă proteolitică, renina, ce trece în circulație prin vena renală. Renina declanșează un proces în cascadă, ce se realizează în două etape (fig. XIX.16). În prima etapă acționează specific asupra *angiotensinogenului* — denumit și *hipertensinogen* — o alfa-2-globulină formată în ficat. Renina, ca protează rupe o legătură leucil-leucinică din angiotensinogen și eliberează astfel un decapeptid, angiotensina I, cu activitate vasomotorie

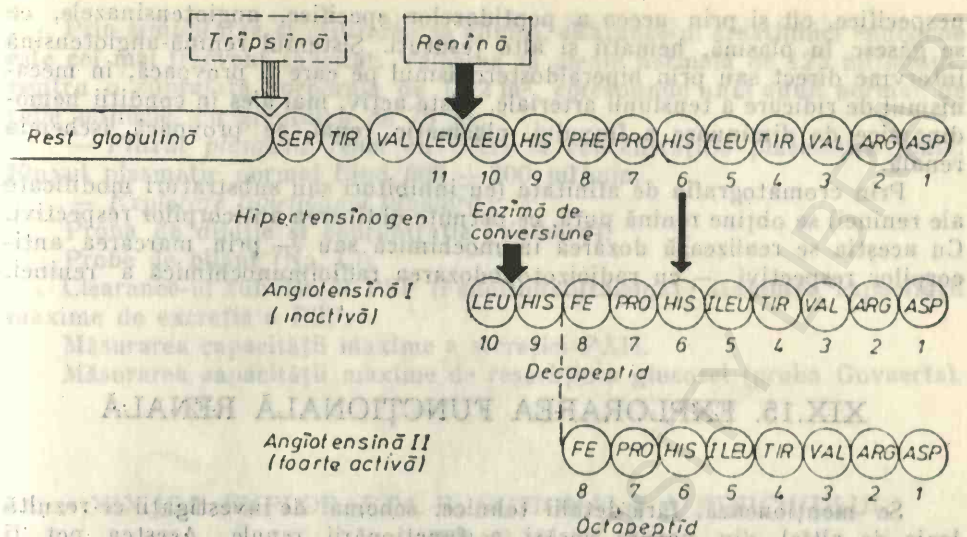


Fig. XIX.16. — Sistemul renină-angiotensină = procesul „în cascadă” declanșat de renină

slabă. Studiul secvenței aminoacidice la acestui lanț peptidic a arătat că există variații dependente de specie la aminoacidul din poziția 5 (valină sau leucină). În etapa a doua, angiotensina I este transformată prin acțiunea unei peptidaze sau „enzima de conversiune” (localizată și provenită din celulele endoteliale ale capilarelor pulmonare), într-un octapeptid, angiotensina II, puternic vasopresor. Formarea octapeptidului se face prin desprinderea celor doi aminoacizi C-terminali, histidina și leucina, ai angiotensinei I. Aceeași enzimă de conversie este răspunzătoare și de degradarea bradikininei.

Cercetări recente adaugă o a treia etapă procesului în cascadă declanșat de renină și anume; îndepărtarea restului N-terminal al angiotensinei II ce conduce la formarea unui hepta-peptid, angiotensina III, ce pare să fie mediatorul biologic efectiv în secreția aldosteronului. În prezent se studiază activ tipuri de substanțe ce pot acționa ca antagoniști ai sistemului renină-angiotensină. Dintre acestea se pot menționa, „în special”, inhibitorii enzimei care declanșează „cascada 2” a formării peptidelor active: pepstatinele (cu structură de acid 4-amino-3-hidroxi-6-metilheptanoic). Anumite peptide ce se găsesse în veninul unor șerpi inhibă degradarea bradikininei și totodată blochează conversia angiotensinei I în angiotensină II. Angiotensina II este unul din cele mai puternice vasopresoare, mult mai activă decât noradrenalina (după unii autori de 200 ori, iar după alții de 20 de ori). Pe lângă efectul vasoconstrictor și ridicare TA, angiotensina II are și efect miotrop, provocând contracția mușchilor netezi. Importanța fiziologică a sistemului renină-angiotensină constă în corelația sa funcțională cu corticosuprarenalele, provocând la acest nivel o importantă creștere a secreției de aldosteron. Cercetările experimentale arată că injecția de renină provoacă o hipertrofie a supra-renalilor. S-ar stabili un ciclu de reglare TA, la care participă rinichiul și supra-renalile prin hormoni respectivi (sistemul renină-angiotensină și aldosteronul).

Acțiunea angiotensinei este de scurtă durată, deoarece ea este rapid degradată în oligopeptide și aminoacizi sub acțiunea, atât a peptidazelor



nespecifice, cit și prin aceea a peptidazelor specifice, angiotensinazele, ce se găsesc în plasmă, hematii și alte țesuturi. Sistemul renină-angiotensină intervine direct sau prin hiperaldosteronismul pe care îl provoacă, în mecanismul de ridicare a tensiunii arteriale. Este activ, mai ales în condiții hemodinamice de diminuare a fluxului plasmatic renal, ce provoacă ischemia renală.

Prin cromatografia de afinitate (cu inhibitori sau substraturi modificate ale reninei) se obține renină pură, ce permite obținerea anticorpilor respectivi. Cu aceștia se realizează dozarea imunochimică sau — prin marcarea anticorpilor respectivi — cu radioizotop dozarea radioimunochemică a reninei.

## XIX.15. EXPLORAREA FUNCȚIONALĂ RENALĂ

Se menționează, fără detalii tehnice, schema de investigații ce rezultă logic de altfel, din natura însăși a funcționării renale. Acestea pot fi grupate în două categorii principale: a) *probe funcționale globale*, ce permit aprecierea rezultantei ansamblului funcțional renal, și b) *probe funcționale selective* ce permit studiul separat al funcțiilor glomerulare și tubulare.

### XIX.15.1. PROBE FUNCȚIONALE GLOBALE

În urină, examenul sumar de urină, cu accent pe volumul și densitatea urinei (din 24 ore), elemente chimice anormale — în special proteinuria, tipul și gradul ei, sedimentul urinar, cu atenție pentru cilindruerie — tipul, abundența și dimensiunile cilindrilor-hematii, leucocite germeni. Când este cazul se cere urocultura cu antibiogramă și sedimentul urinar cantitativ. — *Osmolaritatea* prin determinarea punctului crioscopic (delta crioscopic). — *Determinarea electroliților urinari*. — *Dozarea amoniacului* (în condiții de conservare, ce împiedică fermentația amoniacală a urinei). — *În sânge* prin dozări de: creatinină, uree, acid uric, eventual azot total neproteic, electroliți, rezervă alcalină.

### XIX.15.2. PROBE FUNCȚIONALE SELECTIVE

— *Explorarea funcțională a glomerulului*: se determină mărimea filtratului glomerular prin stabilirea „clearance-ului” creatininei endogene, al insulinei, manitolului sau hiposulfidului de sodiu.

Prin simplitatea și utilizarea sa clinică, clearance-ul creatininei endogene este cel mai frecvent solicitat. Valoarea sa medie normală de 125 ml/minut, pentru o suprafață corporală de 1,72 m<sup>2</sup>, corespunde unui adult normal, de talie mijlocie, cu greutatea de 70 kg.

— *Fluxul plasmatic renal* cu PAH la concentrațiile plasmatice joase. Fluxul plasmatic normal fiind  $600 \pm 200$  ml/min.

— *Explorare funcțională tubulară*;

Proba de diluție și concentrație (Volhard).

Probe de bilanț (Na, Cl).

Clearance-ul tubular al PSP (Fenolsulfonftaleină); stabilirea capacității maxime de excreție a PSP.

Măsurarea capacității maxime a secreției PAH.

Măsurarea capacității maxime de resorbție a glucozei (proba Govaerts).

### XIX.15.3. EXPLORAREA FUNCȚIONALĂ A RINICHIULUI SEPARAT

Se practică în special, după caz, urografia descendentă, ascendentă, ne-  
trograma izotopică, scintigrafia renală.



## Cap. XX. BIOCHIMIA RĂSPUNSULUI IMUN

### XX.1. GENERALITĂȚI

Răspunsul imun\* reprezintă un ansamblu de modalități reacționale specifice unui organism sau unui anumit sistem celular, declanșate prin contactul cu o substanță străină — o proteină sau altă macromoleculă străină speciei — introdusă în interiorul acestuia. În mod restrins răspunsul imun are înțelesul de producere de anticorpi specifici față de un anumit corp străin denumit antigen\*\*, în înțelesul generator de reacții îndreptate împotriva sa însuși (anticorpilor).

Conceptiile fundamentale asupra imunității sînt legate de opera citorva mari personalități ca Pasteur, Mechnikov, Erlich, care au elaborat primele teorii asupra imunității umorale și celulare. Imunochimia — termen creat de Svante Arrhenius în 1907 — dezvoltată ulterior, a fost fondată prin lucrările lui Landsteiner și a evoluat prin continua împletire cu biochimia, prin contribuțiile aduse de Heidelberger, Haurowitz, Westphal, Lederer, Morgan și Kabat, Burnet, Medawar, Porter, Edelman etc.

Răspunsul imun — ale cărui baze moleculare din ce în ce mai bine înțelese — constituie fundamentul întregului domeniu al imunologiei.

Datele de compoziție, structură, situsuri active și metabolism ale antigenelor și anticorpilor fac azi obiectul unei discipline speciale, imunologia moleculară. Aceasta deschide nu numai perspectiva unei înțelegeri mai profunde a proceselor imunitare, ci și a unor probleme de biologie moleculară ca : „recunoașterea“ moleculelor între ele, reglarea funcției genetice în organisme superioare, carcinogeneza și alte mecanisme de producere a bolilor (patologia imună). Răspunsul imun este un produs recent al evoluției biologice : el se manifestă numai la vertebratele superioare. La vertebratele inferioare mecanismele imune lipsesc sau sînt incomplete, la acestea, fagocitoza reprezintă modul primar de apărare.

Reacția antigen-anticorp se produce avînd la bază principiul complementarității. Situsurile de legătură ale anticorpilor reflectă complementar

\* Etimologic, cuvîntul derivă din latinescul *immunis*, cu înțelesul de a fi scutit sau ferit de ceva (de dări, de sarcini).

\*\* Termenul antigen, derivă din două cuvinte grecești, *anti-* și *gennan* (a produce).

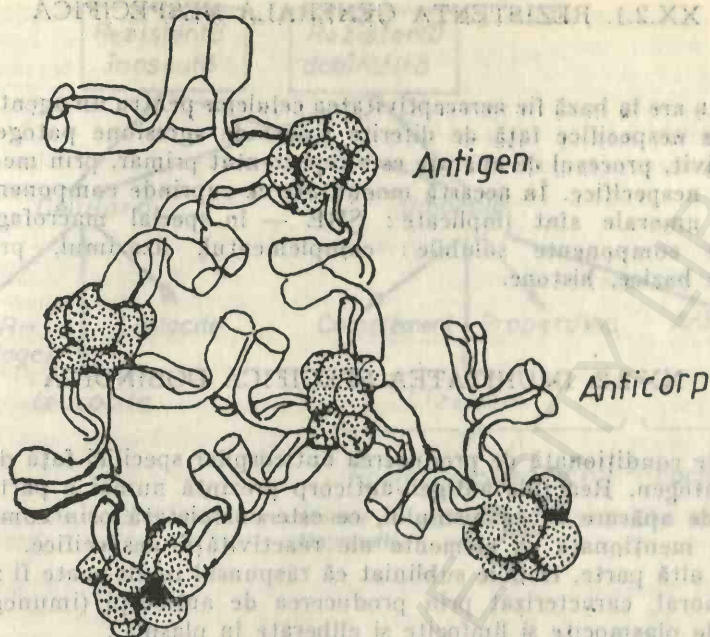


Fig. XX.1 — Rețea tridimensională antigen-anticorpi (adaptat după Lehninger).

trăsăturile structurale specifice ale antigenului. Aceste legături fac posibilă formarea unor rețele tridimensionale cu molecule alternante de antigen-anticorp (fig. XX.1).

Animalele pot fi imunizate simultan chiar față de un număr mare de macromolecule diferite (incluzând și variați derivați sintetici ai acestora), pe care nu le-au întâlnit vreodată în habitatul lor natural\*.

Specificitatea anticorpilor reflectă relațiile filogenetice. Anticorpul, față de o proteină de la o anumită specie, nu reacționează cu proteina omoloagă de la o specie taxonomic îndepărtată. Diferențele structurale ale proteinelor omoloage, de la diferite specii, sînt rezultatul secvenței aminoacizilor componenți ai lanțurilor polipeptidice respective.

## XX.2. MODALITĂȚI REACȚIONALE ALE ORGANISMULUI

Conceptul inițial de imunitate se referă la apărarea contra infecțiilor și are înțelesul de stare de rezistență specifică antiinfecțioasă ce se instalează ca urmare a contactului activ cu agentul cauzal al bolii. Conflictul între antigenul patogen și organism în diferitele sale forme, este întemeiat pe două modalități reacționale.

\* Istoricul cunoștințelor dobândite asupra antigenelor începe cu lucrările lui Behring și Kitasato (1890), dezvoltîndu-se prin rezultatele obținute de Pfeiffer, Bordet (1895).



## XX.2.1. REZISTENȚA GENERALĂ NESPECIFICĂ

Aceasta are la bază fie nereceptivitatea celulelor pentru un agent patogen, fie reacțiile nespecifice față de diferite tipuri de agresiune patogenă. Filogenetic, privit, procesul de apărare este reprezentat primar, prin mecanismele de apărare nespecifice. În această modalitate ce cuprinde componente active celulare și umorale sînt implicate: SRE — în special macrofagele — și importante componente solubile: complementul, lizozimul, properdina, polipeptide bazice, histone.

## XX.2.2. IMUNITATEA SPECIFICĂ DOBÎNDITĂ

Ea este condiționată de producerea anticorpilor specifici față de agentul agresor, patogen. Reacțiile antigen-anticorp prezintă numai o parte din capacitatea de apărare a organismului, ce este completată prin componentele plasmatice menționate ca elemente ale reactivității nespecifice.

Pe de altă parte, trebuie subliniat că răspunsul imun poate fi :

- umoral, caracterizat prin producerea de anticorpi (imunoglobuline) secrete de plasmocite și limfocite și eliberate în plasmă ;

- celular, caracterizat prin apariția de limfocite specific sensibilizate, factorii fenomenelor imunologice mediate celular, de tip întîrziat (limfocitele „T“).

Acești factori pot media apariția de fenomene ce au o consecință diametral opusă pentru organismul în care se produc, și anume :

- reacția specifică de apărare, de vindecare, intră în categoria reacțiilor de imunitate antiinfecțioasă, antitoxică.

- reacții nocive, de boală, numite de sensibilizare (hipersensibilizare), reacții alergice ca și reacțiile de rejecție a homogrefelor. Oricare din aceste fenomene poate fi de tip imediat (umoral) sau de tip întîrziat (celular) sau mixt, în raport cu efectorii implicați. Din această alternativă, conceptul actual asupra răspunsului imun diferă de cel inițial, limitat la efectul de apărare declanșat prin contactul organismului cu un agent infecțios. În prezent accentul cade pe natura mecanismului, incluzînd ca efect atît apărarea cît și patologia imună.

### XX.2.2.1. Posibilitatea de reacție specifică și nespecifică

Posibilitățile de reacție specifică și nespecifică ale organismelor superioare față de agresiuni sînt schematizate în fig. XX.2. Procesul imunologic are ca punct de plecare așa-numita recunoaștere a propriului (self) de străin (non self) ; acesta este un caracter fundamental la care se pot adăuga : specificitatea, „memoria imunologică“, suspendarea memoriei sau toleranța imunologică. În anumite condiții reacțiile imune se petrec și față de substanțele proprii, degradate, care devin „non self“ sau cînd componentul, în cauză nu a fost de timpuriu cunoscut în sistemul imun respectiv.

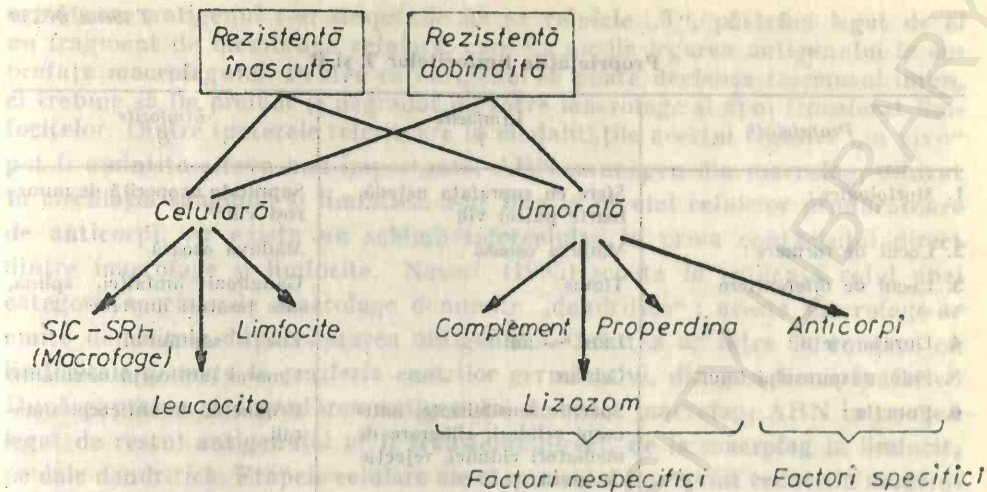


Fig. XX.2 — Cele două modalități reacționale de apărare ale organismului (adaptat după Rapoport).

### XX.2.3. SISTEMUL IMUN

Acesta este un organ difuz, răspândit în majoritatea țesuturilor. El cuprinde : un trilion de celule ( $10^{12}$ ) imunocompetente din SRE (SIC), leucocitele, limfocitele și derivatele lor plasmatică, precum și 100 de milioane de trilioane ( $10^{20}$ ) macromolecule, adică anticorpii sintetizați și eliberați în circulație de către limfocite și plasmocite. Limfocitele din curentul sanguin reprezintă doar o mică parte din totalul populației limfocitare, 99% fiind în organele de producție, ganglioni limfatici, măduvă, timus, splină.

#### XX.2.3.1. Limfocite „T” și „B”

Conceptiile actuale asupra răspunsului imun recunosc, ca fundamentale pentru asigurarea lor, existența a două populații de limfocite, denumite „T” — timodependente și „B” — bursodependente ; denumirea este legată de proveniența lor din anumite organe limfoide centrale : timusul pentru limfocitele „T” și măduva osoasă (echivalent probabil al bursei Fabricius de la păsări) pentru limfocitele „B”.

În diferențierea limfocitelor „T” și „B” din celulele de origine intervin hormoni specifici ca : timopeptina (hormon polipeptidic timic) și ubicuitina (hormon polipeptidic izolat din toate țesuturile). Mecanismul biochimic de reglare a procesului este de tipul „sistemului cu două semnale”, care implică AMP-ciclic ca semnal secund. În Tabelul XX.1 sînt redată proprietățile limfocitelor „T” și „B”. Cele două tipuri de limfocite produse în organele centrale sînt trimise pe cale circulatorie către organele limfoide periferice (ganglioni limfatici, splină, țesuturi limfoide asociate, tractusul intestinal,



Proprietățile limfocitelor T și B

Proprietăți	Limfocite T	Limfocite B
1. Morfologice :	Sfere cu suprafața netedă, foarte puțini vili	Suprafața acoperită de numeroși vili
2. Locul de formare :	Măduva osoasă	Măduva osoasă
3. Locul de diferențiere	Timus	Ganglioni limfatici, splină, alte țesături limfoide
4. Durata vieții :	Luni — ani	Zile — săptămâni
5. Felul răspunsului imun	Celular	Umoral (anticorpi circulanți)
6. Funcția :	Specific sensibilizate, anticorpi celulari, eliberare de mediatori chimici, rejecție de grefă	Producția de anticorpi umorali
7. Intrare în acțiune :	Întârziat	Imediat

plăci Payer, apendice, plăci lăptoase din omentum majus). La acest nivel contactul lor cu antigenul declanșează răspunsul imunoefector.

Limfocitele T, cu suprafață aproape netedă, răspund la imunitatea mediată celular, hipersensibilitatea întârziată sau de tip tuberculinic, distrugerea celulelor „țintă” — funcție de „Killer”, activitatea „Helper” — de ajutor în fenomenul de producere a anticorpilor, rejecția transplantelor. Viața lor este de ordinul lunilor și chiar mai mult (un an).

În imunitatea mediată celular, limfocitele „T” specific sensibilizate reprezintă anticorpii celulari ce posedă pe suprafață sedii de recunoaștere a antigenului. În răspunsul imun de tip primar limfocitele „T” cu memorie imunologică persistă 4—5 zile. Răspunsul imun secundar se caracterizează prin mobilizarea rapidă a limfocitelor „T” la locul de pătrundere a antigenelor. Contactul lor cu antigenul este urmat de transformare blastică, proliferare rapidă de L.S.S. și eliberare de diferiți mediatori chimici moleculari de natură necunoscută denumiți limfokine (factori de inhibare a migrării macrofagelor, „factori de transfer”, factor mitotic, limfotoxine sau factorul citotoxic).

Limfocitele „B”, cu numeroși vili pe suprafață, stimulate prin antigene, dau naștere plasmocitelor generatoare de imunoglobine (anticorpi umorali). În răspunsul imun față de diferite antigene, limfocitele „B” au nevoie de acțiunea „Helper” a limfocitelor „T” pentru a putea produce anticorpi. Feldman (1972) sugerează un circuit fiziologic al antigenului referitor la angajarea lui în procesul generator de anticorpi.

### XX.2.3.2. Etape celulare ale răspunsului imun

Recunoașterea antigenului la nivelul celulelor imunocompetente este procesul preliminar obligatoriu, care precedă răspunsul imun, independent de tipul acestuia, umoral sau celular. În prima etapă, antigenul se fixează pe suprafața limfocitului „T” ce poartă receptorii de suprafață specifici. În etapa

urinătoare antigenul s-ar desprinde de pe celulele „T”, păstrînd legat de el un fragment de membrană celulară, care va media legarea antigenului la suprafața macrofagului. Pentru ca antigenul să poată declanșa răspunsul imun, el trebuie să fie preluat și degradat de către macrofage și apoi transferat limfocitelor. Dintre ipotezele referitoare la modalitățile acestui transfer „in vivo” pot fi amintite cîteva mai importante. ARN imunogen din macrofag, difuzat în circulația sanguină și limfatică, s-ar fixa la nivelul celulelor producătoare de anticorpi. Ar exista un schimb intercelular în urma contactului direct dintre macrofage și limfocite. Nassal (1965) scoate în evidență rolul unei categorii speciale de macrofage denumite „dendritice”; aceste macrofage ar emite dendritele după captarea antigenului. Acestea ar intra în contact cu limfocitele grupate la periferia centrilor germinativi, din ganglionii limfatici. După captarea și degradarea antigenului de către macrofag, ARN imunogen legat de restul antigenului ar fi transferat direct, de la macrofag la limfocit, pe cale dendritică. Etapele celulare ale răspunsului imun sînt redată în modelul din fig. XX.3. Se cunosc și alte modele mai noi ale acestor interrelații celulare, implicate în răspunsul imun, ce vor fi prezentate în cadrul datelor referitoare la receptorii celulari de suprafață a limfocitelor „T” și „B” și ai macrofagelor.

Se expun mai departe cunoștințele de biochimie, care au adus un aport substanțial la elucidarea problemei răspunsului imun, la nivel molecular,

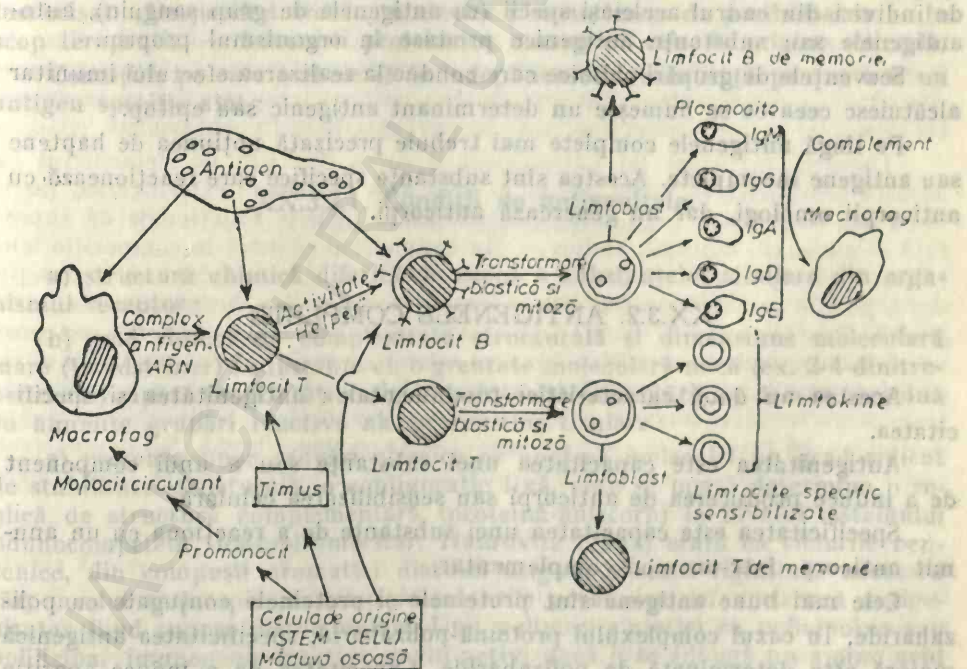


Fig. XX.3 — Etapele celulare ale răspunsului imun.



fără să fi dat însă soluționarea sa completă. Ne vom opri deci asupra datelor referitoare la : compoziția și structura antigenelor și anticorpilor, sinteza și genetica anticorpilor, receptorii de suprafață ai celulelor imunocompetente; recunoașterea antigenului, reacția antigen-anticorp.

## XX.3. ANTIGENELE

### XX.3.1. DETERMINANȚI ANTIGENICI

Antigen poate fi orice substanță care introdusă în organism declanșează reacții imunologice. Răspunsul imunitar poate ține de formarea de anticorpi circulanți (umorali) sau de starea de sensibilitate celulară sau hipersensibilitatea întârziată, stare refractară sau de toleranța imunologică, cu pierderea „memoriei imunologice“. Natura antigenelor este foarte variată ca origine și structură, ele putând să fie : proteine, polizaharide, lipide sau asociații dintre acestea. Antigenele se pot produce direct în organism prin modificări metabolice neobișnuite, mutații somatice sau transformări oncogene (Burnet, 1970). În funcție de proveniența lor în raport cu specia animală imunizată, antigenele pot fi clasificate în : heteroantigene (de origine străină, de la altă specie animală, vegetală sau microbială) ; izoantigene provenite de la un grup de indivizi din cadrul aceleiași specii (ca antigenele de grup sanguin), auto-antigenele sau substanțe antigenice produse în organismul propriu.

Secvențele de grupări chimice care conduc la realizarea efectului imunitar alcătuiesc ceea ce se numește un determinant antigenic sau epitop.

Pe lângă antigenele complete mai trebuie precizată noțiunea de haptene sau antigene incomplete. Acestea sînt substanțe specifice care reacționează cu anticorpii omologi, dar nu generează anticorpi.

### XX.3.2. ANTIGENELE COMPLETE

Acestea au două caracteristici fundamentale : antigenitatea și specificitatea.

Antigenitatea este capacitatea unei substanțe sau a unui component de a induce producerea de anticorpi sau sensibilizarea celulară.

Specificitatea este capacitatea unei substanțe de a reacționa cu un anumit anticorp, într-un mod complementar.

Cele mai bune antigene sînt proteinele și proteinele conjugate cu polizaharide. În cazul complexului proteină-polizaharid, specificitatea antigenică majoră este determinată de polizaharide. Capacitatea de a induce apariția de anticorpi este datorată componentei proteice. Majoritatea proteinelor sînt

antigene, spre deosebire de polipeptide și histone, care manifestă rareori această proprietate. Baza moleculară a variabilității imunogene a diferitelor proteine nu este însă bine cunoscută. Se presupune că ea ar putea fi explicată, prin diferențele de structură — primară, secundară, terțiară, cuaternară — a diferitelor proteine. Polizaharidele au putere imunogenă mai slabă decât proteinele. Polizaharidele lineare sau ramificate pot determina însă reacții de specificitate în cadrul răspunsului. Antigenitatea acizilor nucleici este discutabilă și controversată însă. În lupusul eritematos diseminat ADN ar funcționa ca antigen. Lipidele sînt socotite a fi lipsite de capacitatea antigenică. Se cunosc însă antigene active de origine tisulară, a căror specificitate depinde de factorii lipidici (ex. cardiolipina sau haptena Wasserman).

Aceasta are proprietăți haptene; cuplate cu unele proteine poate induce producerea de anticorpi ce se comportă ca „reagine-Wasserman“, existente în serurile luetice.

În unele stări patologice apar în circulație „antigene de organ“ (cristalin, rinichi, tiroidă, țesut nervos, testicul) care generează autoanticorpi cu implicații în determinismul proceselor morbide prin mecanism autoimun.

Trebuie subliniat faptul că antigenele prezintă o specificitate de specie, strins corelată cu clasificarea biologică, precum și o specificitate de organ. Aceste trăsături exprimă variabilitatea de compoziție și structură a proteinelor sintetizate în diferitele condiții biologice ale evoluției și diferențierii celulare. Trebuie menționat însă și faptul că o serie de macromolecule, provenind de la specii diferite, dar care au structuri chimice similare (hormoni, enzime, izoenzime) și proprietăți funcționale identice reacționează serologic întrucît. „Despecificizarea“ proteinelor plasmatică ar da posibilitatea — în scop terapeutic — înlocuirii proteinelor umane cu cele de origine animală.

Condițiile pe care trebuie să le îndeplinească o substanță pentru a fi un antigen specific sînt :

#### XX.3.2.1. Condiții de antigenitate

a) structură chimică diferită de aceea a substanțelor similare din organismul receptor ;

b) grad ridicat de complexitate structurală și dimensiune moleculară mare (Landsteiner) : substanțe cu o greutate moleculară mică (ex. 2-4-dinitrobenzenul) capătă proprietăți antigenice datorită capacității lor de a se combina cu anumite grupări reactive ale proteinelor tisulare ;

c) prezența unor grupări chimice ce conferă moleculei un grad ridicat de stabilitate structurală, o configurație fixă, care să poată determina o replică de structură complementară (proteină-anticorp) la nivelul sistemului imunocompetent, limfoplasmocitar. Haurovitz (1952) arată că ciclurile benzenice, din compușii aromatici diazoici asigură această rigiditate necesară răspunsului anticorpice, în timp ce lanțurile parafinice defavorizează antigenitatea fiind supuse distorsiunilor. Unii polimeri sintetici ca polialanina sau polilizina, imunogenie inactivi, devin activi dacă li se adaugă un amino acid aromatic (tirozina, fenil-alanina, histidina). Deși aromaticitatea este favorabilă proprietăților antigenice ea nu este totuși indispensabilă apariției lor.



Alte modificări chimice ca nitrarea sau arsanilizarea unei substanțe proteice cu structură simplă (ca de ex. gelatina) poate determina apariția capacității de a produce anticorpi;

d) substanța să fie străină de organismul în care pătrunde;

e) să provină dintr-o sursă taxonomic îndepărtată de animalul receptor, situație ce poate asigura o diferență structurală marcată față de cele omoloage din organismul gazdă.

Antigenitatea poate fi tulburată prin denaturarea substanței purtătoare a acestei funcții. Racemizarea unei proteine (prin tratare cu hidroxizi alcalini) precedată de fracționarea moleculei (Boyd) conduce la scăderea calității antigenice.

### XX.3.2.2. Condiții de specificitate

Acestea sînt determinate de:

a) structura chimică a moleculei de antigen;

b) natura chimică și orientarea spațială, cu poziția relativă a grupărilor active, libere în molecula antigenică;

c) secvența elementelor componente ale moleculei polimerului (a aminoacizilor în cazul proteinelor);

d) gradul și modul de torsionare a polimerului.

Revenind cu precizări asupra acestor patru condiții trebuie subliniat aportul important al lucrărilor de imunochimie efectuate în perioada 1906—1945 pentru stabilirea substratului molecular al specificității antigenice. În 1906 Obermayer și Pick au dovedit că o simplă modificare în structura unei proteine — introducerea unei grupări  $\text{NO}_2$  (nitrare) sau a unui atom de iod (halogenare) poate determina schimbarea specificității antigenice.

Datorită lucrărilor lui Landsteiner și colab. în 1945 s-a demonstrat că această schimbare se poate obține și prin alte procedee: esterificarea, metilarea sau acetilarea, prin care se blochează grupările funcționale de suprafață — carboxil, hidroxil, amino — din aminoacizii ce intră în compoziția lanțurilor polipeptidice antigenice. În lucrările lui Landsteiner diazoreacția are o poziție centrală pentru determinarea modificărilor de specificitate antigenică. Prin diazotarea unor proteine (globuline) de origine diferită s-a provocat formarea de azoproteine, ce dau reacții încrucișate (determinanți antigenici comuni) cu antiserurile respective. De asemenea, prin tratarea proteinelor cu fenilizocianat în soluție alcalină s-au obținut fenil-ureidoproteine, ce dau reacții încrucișate ale unor proteine de origine diferită. S-a demonstrat astfel că specificitatea antigenică depinde de grupări chimice funcționale ce au o anumită structură.

e) O altă categorie de investigații a dovedit rolul izomeriei optice, a caracterelor stereochemice ale moleculelor antigenice, în determinismul specificității sale imunologice. S-au folosit în acest scop antigene dextro-, levo- și mezotartrice, precum și antigene glicozidice și galactozidice. S-a ajuns la concluzia că specificitatea antigenică poate fi modificată prin rearanjarea diferită a unei grupări chimice în jurul unui singur atom de carbon, așa încît ea să ocupe pozițiile dextro, levo sau mezo.

f) Izomeria de poziție s-a dovedit a avea, ca și cea optică, un rol în determinismul specificității antigenice. Având ca punct de plecare proteine neînrudite antigenic s-au folosit în studii bazate pe reacții de precipitare cu seruri imune monospecifice, azoderizați substituiți cu aceeași grupare (de ex.  $\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{COOH}$ ) în pozițiile orto, meta și para. S-a demonstrat importanța poziției relative a grupărilor funcționale libere, din molecula antigenică, pentru determinismul specificității antigenice. S-au folosit în experimente azoproteine sintetizate din dipeptide ca: glicil-glicina, leucil-leucina, glicil-leucina, leucil-glicina. Observațiile au arătat că aminoacidul C-terminal influențează specificitatea antigenului. Din studii în continuare, efectuate cu pentapeptide, rezultate din diferite combinații de leucină și glicină, s-a dedus că specificitatea antigenică poate fi modificată în măsură diferită de toți cei cinci aminoacizi terminali. Imunizarea obținută prin folosirea unui compus similar de tipul aminoizoftalil-glicin-leucina (GIL) a condus la formarea a două tipuri de anticorpi (G și L) și la concluzia că pot exista compuși de tipul celui experimentat ce constituie un determinant dublu antigenic, sau antigen bivalent.

Conform ipotezei lui Marrak caracterelor imunologice ale proteinelor naturale sînt determinate de secvența aminoacizilor în lanțul polipeptidic (structura primară). Forma globulară a proteinelor (globulinele) anihilează acțiunea unora dintre aminoacizii care nu mai au acces la suprafața moleculei. Mai multe resturi aminoacidice, învecinate, pot reacționa în ansamblu, constituind „un centru activ” (determinat pe suprafața antigenului = active patch). Suprafața unui centru activ ar fi după Landsteiner și Van der Scheer (1938) de  $7\ \mu^2$  iar după Karush (1956—1957) de  $6-8\ \mu^2$ .

Studiul antigenelor de tip poliozidic (1971) a dovedit că situsurile specifice ale antigenelor pot fi reprezentate chiar numai printr-un trizaharid ca: manoză-ramnoză-galactoză. Una din cele trei molecule de zahăr simplu este imunodominantă, deoarece anticorpii vor reacționa în special cu zaharurile imunodominante, situate de obicei la extremitatea lanțului poliozidic, la salmonelle, iar la pneumococ în interiorul lanțului liniar.

### XX.3.2.3. Valența antigenelor

Este exprimată, în numărul de molecule de anticorpi ce reacționează cu o singură moleculă de antigen. Numărul acestor valențe este în funcție de acela al determinantilor antigenici ai unei molecule, care în general, nu sînt bine cunoscuți. Cu toate deficiențele neînclăturate, pînă în prezent numărul valențelor poate fi stabilit estimativ, prin două feluri de metode serologice — prin analiza precipitatelor — pentru antigenele naturale (proteine, polizaharide bacteriene) sau chimice — prin titrare — pentru antigenele sintetice. S-au semnalat diferențe între numărul de valențe stabilit prin cele două tipuri de metode. Diferența este datorită faptului că unele grupări chimice active nu sînt accesibile anticorpilor, nefiind așezate la suprafața moleculei, dat sînt abordabile reacțiilor chimice. Pentru antigenele cu greutate moleculară medie s-a calculat că numărul minim de grupări reactive, în precipitarea complexului antigen-anticorp, este cuprins între 5—15.



## XX.4. HAPTENE (ANTIGENE INCOMPLETE SAU PARȚIALE)

Așa cum s-a arătat anterior, au fost denumite haptene unele substanțe simple cu dimensiuni moleculare variate (în special mici), legate foarte probabil covalent [Mitchinos (1967) și Hamaoka și colab. (1971)] de o proteină suport. Ele pot reacționa specific cu anticorpii dar nu pot induce producerea lor. În accepția inițială dată de Landsteiner, aceste antigene parțiale erau substanțe cu greutate moleculară mică; acizii aminobenzoici, arsanilați, dipeptide, pentapeptide, acid acetil-salicilic. Ulterior aceeași școală a folosit antigene sintetice cu dimensiuni moleculare variate ca: derivatul anilinic al acidului succinic (greutate moleculară mijlocie), derivatul anilinic al acidului suberic (cu lanț lung de atomi de carbon, greutate moleculară mare).

Serurile imune obținute au dat reacții de precipitare cu antigenul omolog iar haptena cu greutatea moleculară cea mai mare, derivată din acid suberic, precipită cu serul omolog, chiar în absența proteinei suport. Alte cercetări au dovedit că o serie de compuși cu structură complexă și greutate moleculară mare (polizaharide bacteriene, polipeptide de tip PPD, tuberculo-fosfatidul) posedă proprietăți haptenice.

Având în vedere gradul de complexitate al substanțelor cît și modul lor de comportare, haptenele au fost clasificate fie în simple, care in vitro nu formează precipitate, iar in vivo nu produc anticorpi, fie haptene complexe, care precipită in vitro cu serul omolog, iar in vivo nu produc anticorpi. În altă clasificare se vorbește de haptene precipitante ce corespund celor complexe și haptene inhibitorii, neprecipitante, corespunzătoare celor simple, care pot reacționa cu anticorpii omologi, pe care îi blochează fără a produce precipitate in vitro. Anticorpurul devine astfel inactiv pentru determinanții antigenici ai antigenului complet sau ai haptenei precipitante.

## XX.5. TIPURI DE ANTIGENE CU IMPORTANȚĂ BIOLOGICĂ-MEDICALĂ

### XX.5.1. VIRUSURI CU STRUCTURĂ MACROMOLECULARĂ NUCLEOPROTEICĂ

Acestea sînt reprezentate în special prin acizii nucleici virali (ARN—ADN), răspunzători de acțiunea infectantă. Aceștia sînt înconjurați de un înveliș proteic numit capsida imunogenă. Învelișul precapsidal, la rîndul său, are o compoziție mixtă lipido-proteică asemănătoare cu aceea a membranelor celulei gazdă. Antigenitatea virală este determinată de ultimele două componente structurale virale, capsida și învelișul pericapsidic.

## XX.5.2. ANTIGENELE BACTERIENE

Structura chimică a pereților bacterieni (1/5 din masă uscată a bacteriei) condiționează în mare măsură proprietățile imunologice ale microorganismelor respective. Se cunosc destul de bine bazele moleculare ale diferenței dintre bacteriile Gram<sup>+</sup> și Gram<sup>-</sup> din punct de vedere al compoziției peretelui. La grupul Gram<sup>+</sup> (coci, bacili) acesta este alcătuit preponderent din mucopolizaharide (MPZ), cefiva aminoacizi înlanțuiți în legături peptidice și foarte puține lipide (fig. XX.4). Peretele bacterian al grupului Gram<sup>-</sup> (Salmonelle, Shigele, E. Coli) este caracterizat prin conținut ridicat de lipoproteine în care sînt reprezentați toți cei 22 aminoacizi și din lipopolizaharide. Comparativ cu prima categorie (Gram<sup>+</sup>), bacteriile Gram<sup>-</sup> conțin de zece ori mai multe lipide și numai 1/10 aminoglucide. După cercetările lui Weidel s-a dedus că există un schelet de bază al peretelui bacterian, mureina, care înconjoară conținutul celulei. Componentele esențiale ale mureinei sînt : aminoacizii alanină, glutamat, lizină, acid diaminopimelic (DAP), acetil glucozamina acidul acetilmuraminic.

Polizaharide

Mureină

Grampozitiv

CITOPLASMA

Gramnegativ

Mureină

Lipoproteine

Lipopolizaharide

Polizaharide

Fig. XX.4 — Structura moleculară a peretelui bacterian : a) germeni Gram (+); germeni Gram (-) (adaptat după Rapoport).



La bacteriile Gram<sup>+</sup> s-au mai găsit printre componente polimeri de esteri fosforici — acidul teicoic, precum și polimeri de glicină, care condiționează rigiditatea scheletului mureinic. Sinteza acidului acetilmuraminic se realizează printr-o reacție între UDP (uridinodifosfat)-acetilglucozamină și fosfoenolpiruvat urmată de hidrogenare.

Proprietățile antigenice ale peretelui bacterian, au la bază compoziția structurii sale externe. S-au obținut date interesante privind în special antigenitatea și compoziția peretelui celular al bacteriilor Gram<sup>-</sup>. Formele S (smooth) posedă toate felurile de antigeni, inclusiv antigenul O, acesta din urmă lipsește în formele R (rough). Se cunosc mutanți cărora le lipsește mulți antigeni (mutant M și super R).

Lipozaharidele din peretele celular constau în principal din trei regiuni cu straturi diferite. Printre acestea se găsește lipopolizaharidul — lipoid A. Lipoidul A este și purtătorul acțiunii endotoxice a bacteriilor Gram<sup>-</sup>. În stratul cel mai din afară se găsește un polizaharid alcătuit din galactoză, manoză și ramnoză, care determină proprietățile antigenice O.

Cercetările asupra polizaharidelor (proteoglicanilor) au dovedit că aceeași determinanți antigenici se pot găsi în produse naturale de surse diferite ca de ex. în anumite spițe de pneumococ, în mucoasa gastrică și în antigenele de grup sanguin.

### XX.5.3. BACILII KOCH

Ei au membrana preponderent alcătuită din lipide (trigliceride, fosfatide, ceride), conțin acizi grași ramificați, saturați sau nesaturați, esteri și trehaloză, a căror componentă acidă la tulpinile virulente constă din acid ftienic și acid micotic.

Virulența bacteriilor TBC este declanșată principal prin așa-numitul „cord factor“, ester al trehalozei cu acidul micolic. Trebuie subliniat faptul că folosind fracțiunea lipidică a bacteriilor TBC se pot obține imunizări comparabile cu cele obținute prin BCG.

### XX.5.4. TOXINELE BACTERIENE

Acestea sînt o categorie de antigene ce iau naștere în metabolismul anumitor specii microbiene. Ele pot fi împărțite, pe criteriu de apartenență, în două mari categorii: a) cele secretate de germenii Gram<sup>+</sup>, cu caracter de exotoxine ce pot fi izolate din mediul de cultură, avînd constituție proteică; sînt termolabile și detoxifiabile prin formol; b) toxinele secretate de bacteriile Gram<sup>-</sup>, au caracter de endotoxine ce pot fi izolate din corpul bacterian, au compoziție macromoleculară complexă, alcătuită din fosfolipide, proteine, polizaharide. Sînt termostabile și nedetoxifiabile prin formol. Din prima categorie fac parte toxina difterică, toxinele streptococice. Date de biochimie destul de numeroase se cunosc referitor la cele două categorii de toxine și la rolul ozidelor, polizaharidelor, al proteinelor și lipoproteinelor în constituția și funcția acestora.

## XX.5.5. ANTIGENE CELULARE ȘI TISULARE

### XX.5.5.1. Antigenele heterofile sau antigenele Forssman

Noțiunea datează din 1911 când Forssman dovedește capacitatea unor antigene din organele de cobai (rinichi) de a induce hemolizine contra eritrocitelor de oaie, ceea ce la modul general înseamnă inducția de anticorpi față de antigene de la specii heteroloage. Asemenea antigene heterofile se găsesc în organele unui număr mare de specii de animale diferite și sînt similare cu cele ce se găsesc la o serie de bacterii (ca bacilul dizenteric Shiga, unele Salmonelle, Pnevumococi) și cu substanță specifică de grup sanguin. Landsteiner a arătat că haptenele antigenelor heterofile au structură mucopolizaharidică.

### XX.5.5.2. Antigenele specifice de grup sanguin

Antigenele eritrocite de suprafață induc apariția de anticorpi serici care determină aglutinarea eritrocitelor (izoaglutinine). Ele aparțin grupului de antigene heterofile. La om se cunosc 14 sisteme de grup sanguin, care constau din mai bine de 100 antigene. Pe lângă grupele sanguine ABO, descoperite de Landsteiner în 1901, cu subgrupele respective —  $A_1$ ,  $A_2$ , H etc. — au fost descrise și alte antigene eritrocitare — Rh (Rhesus), P, sistemele MNS, Kell-Celano, Lewis, Lutheran etc. În serul purtătorilor de antigene de grup sanguin (A, B sau AB) sînt prezente izoglutininele anti B (beta), anti A (alfa), sau acestea lipsesc total la AB. La cei cu grupa 0 se găsesc în ser anticorpi anti A anti B. Grupele eritrocitare (0) poartă pe suprafață antigenul H. În Europa Centrală distribuția procentuală a grupelor sanguine este: grupa A 40%, avînd în ser izoglutinina beta; grupa B (16%) cu izoglutinina alfa în ser; grupa AB (4%) fără izoglutinine în ser; grupa (0) cu antigen H eritocitar și izoglutininele  $\alpha$  și  $\beta$  în ser. Sînt desemnate ca persoane secretoare (cca 80% din populație) acelea care elimină substanțe de grup sanguin, solubile în apă, prin: urină, salivă, suc gastric, lichid amniotic, mucus cervical, lichid spermatic, lichid de chist ovarian etc.

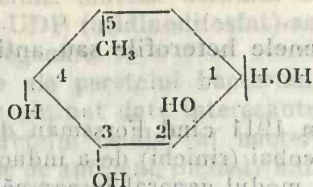
Caracterizare biochimică. Datele biochimice pentru caracterizarea grupelor sanguine sînt incomplete și mult mai puține decît cele serologice și genetice. Părerile sînt unanime numai asupra naturii chimice a determinanților antigenici AB, 0 și ai sistemului Lewis. Asupra celorlalți determinanți antigenici și mai ales asupra sistemului Rhesus (important pentru geneza eritroblastozei fetale) nu este nimic cunoscut. Antigenele AB—H ce se găsesc (după cum am arătat) pe suprafața tuturor endoteliilor a multor celule epiteliale ca și pe eritrocite, trombocite și spermatozoizi sînt alcătuite mai mult din glicosfingolipide.

Monozaharidele prezente în determinanții antigenici ai substanțelor de grup sanguin sînt: L-fucoza, D-galactoză, N-acetil-D-galactozamină,

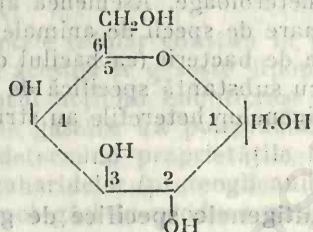


N-acetil-D-glucozamină și N-acetil-neuraminic (acid sialic) dintre care principale sînt primele patru :

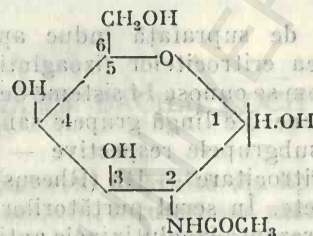
**L-Fucoză**



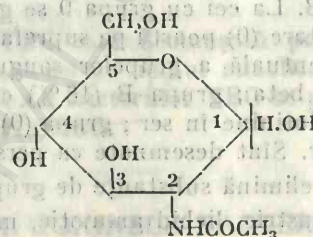
**D-Galactoză**



**N-Acetil-D-Galactozamină**



**N-Acetil-D-Glucozamină**



Datele asupra caracteristicilor chimice a antigenelor de grup sanguin privesc atît molecula, cît și gruparea determinantă. Suportul transportor este o proteină sau un lipid, în timp ce gruparea determinantă antigenic este formată, de regulă, dintr-un oligozaharid elaborat principal din patru componente (zaharuri).

Substanțele AB, O și Lewis secretate, cît și antigenele eritrocitare de grup sanguin aparțin glicoproteinelor (proteoglicanilor).

Glicoproteina are o greutate moleculară de 200 000 pînă la mai multe milioane de daltoni, componenta glucidică reprezentînd 85% din greutatea totală. Conținutul în serină și treonină al compoziției proteice este remarcabil de ridicat. Se presupune că o parte din oligozaharid este legat glicozidic de grupările hidroxil ale acestor doi aminoacizi. Cu mare probabilitate, substanța Rhesus aparține componentelor glicolipidelor. În acest caz molecula transpor-

toare este ceramida, alcătuită dintr-un aminoalcool numit sfingol, antrenat într-o legătură amidică cu un acid gras. Această funcție alcool primar este locul de legare a componentei oligozaharidice. Biosinteza se realizează prin acțiunea enzimelor glicoziltransferaze. Monozaharidele sunt fixate pe o structură de bază, un schelet dizaharidic, alcătuit din D-galactoză și N-acetil-D-galactozamină. Prin legarea celor două zaharuri în formele 1, 3- $\beta$ -glicozidică sau 1, 4- $\beta$ -glicozidică se obțin două tipuri de lanțuri, tipul 1 și 2. În cazul că la structura bazală se leagă de galactoză (prin legătura  $\alpha$ -glicozidică) un rest fucoză, prin acțiunea unei  $\alpha$ -2-fucozil-transferaze se produce o structură chimică cu specificitate H (eritrocite grup 0). Dacă această moleculă cu specificitate H se cuplează cu N-acetil-galactozamina, respectiv cu galactoză, se produc determinanți antigenici ai grupelor A și B. În aceste reacții sunt implicate enzimele:  $\alpha$ -N-acetil-galactozaminotransferaza și  $\alpha$ -galactozil-transferaza. În cazul că restul de fucoză este transferat numai pe componenta acetil-galactozaminică a structurii bazale, ia naștere o substanță cu specificitate  $Le^a$  (Lewis<sup>a</sup>). Dacă glicoziltransferaza acționează asupra determinanților de grup H<sup>+</sup> ca substrat ia naștere o substanță antigenică tip  $Le^b$ . Pentru a se explica distribuția grupelor sanguine, au fost luate în considerație ipoteze două posibilități:

— toți oamenii aparțin la origine grupului (0) — au substanță antigenică H; prin mutație se câștigă capacitatea de biosinteză a determinanților de grup sanguin A și (sau) B;

— toți oamenii posedă, la origine, determinanții grupului A și B și printr-o mutație adaptivă pierd capacitatea de biosinteză a uneia din cei doi determinanți de grup, producându-se grupa 0, cu antigenul H. În mod speculativ se atribuie epidemiilor de ciumă un rol în geneza acestei mutații.

### XX.5.5.3. Antigenele leucocitare și trombocitare

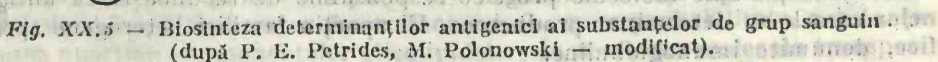
Aceste elemente figurate ale singelui sunt purtătoarele unui sistem de antigene, care în conformitate cu o convenție internațională unanim acceptată, este denumit sistemul HL—A (Human leucocyte locus A system). Aceste antigene sunt prezente în toate țesuturile cu excepția eritrocitului și reprezintă sistemul major de histocompatibilitate la om. El face parte dintr-o serie de „markeri genetici” a căror combinație duce la un număr mare de fenotipuri.

## XX.6. ANTICORPII SAU IMUNOGLOBULINELE

### XX.6.1. CONSIDERAȚII GENERALE

Anticorpii sunt molecule proteice responsabile de recunoașterea antigenelor care le-au determinat producerea. Ei aparțin familiei heterogene specifice, denumite imunoglobuline.





Imunoglobulinele fac parte din sistemul gamaglobuline, dar nu toate gamaglobulinele sînt purtătoare ale funcției anticorp. Raportul strîns dintre acest atribut și globulinele sistemului gama din plasma umană este dovedit și prin incapacitatea de producere a anticorpilor în gamaglobulinemia înăscută. Anticorpii sînt numeroși și variați, corespunzînd multiplicității și diversității antigenelor (cca un milion la om) care le provoacă formarea. Se găsesc în diferite țesuturi, o parte dintre ei fiind imunoglobuline sau anticorpi circulanți în plasmă și în limfă, iar o altă parte fiind imunoglobuline sesile, legate de membranele celulare, îndeplinind funcția de receptori (pe limfocitele T, B și macrofage).

Cunoștințele actuale asupra imunoglobulinelor sînt dobîndite prin studii făcute asupra celor ce aparțin sistemului gama plasmatic uman. Prin imuno-electroforeze se separă din aceste sisteme 5 clase diferite de imunoglobuline IgG, IgM, IgA, IgD, IgE cunoscute și ca : gama G, gama M, gama A, gama D și gama E globuline.

Funcționînd ca anticorpi cu specificitate variată, ele posedă însă o mare heterogenitate chiar în interiorul claselor individuale care se subîmpart, la rîndul lor, în subclase, subgrupuri și subtipuri.

### XX.6.1.1. Model general de structură

Numeroase cercetări bazate fie pe reducerea punților disulfurice, fie pe proteoliza limitată, au condus la constituirea unui model general de structură. În esență, imunoglobulinele sînt proteine policatenare alcătuite din două feluri de lanțuri peptidice, cu greutate moleculară și secvența aminoacidică diferite (fig. XX.6) :

— un lanț greu „H” de natură glicopeptidică, cu greutate moleculară de 50 000 pînă la 70 000, a cărui structură definește caracterul clasei de imuno-

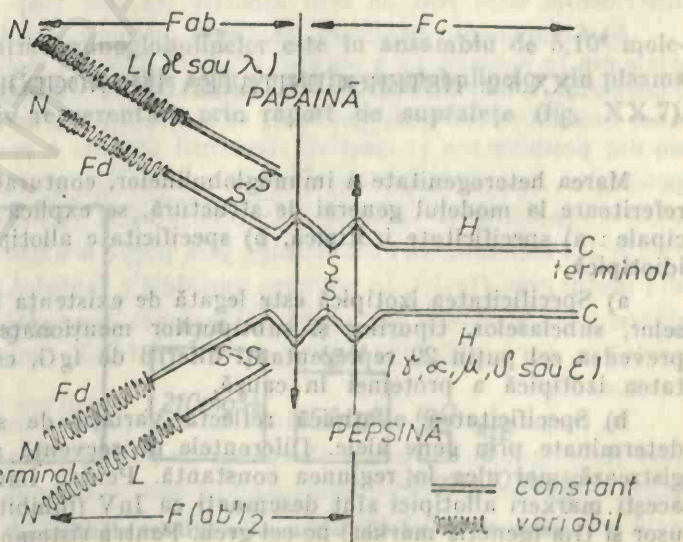


Fig. XX.6. — Model general de structură a imunoglobulinelor (anticorpilor).



globuline (G, A, M, D, E). Sînt cunoscute 5 tipuri de lanțuri grele, desemnate prin litere grecești:

- $\gamma$  — pentru  $\gamma$ G (IgG);
- $\alpha$  — pentru  $\alpha$ A (IgA), cu notația veche  $\beta_2$ A;
- $\mu$  — pentru  $\gamma$ M (IgM), cu notația veche  $\beta_2$ M;
- $\delta$  — pentru  $\gamma$ D (IgD);
- $\epsilon$  — pentru  $\gamma$ E (IgE).

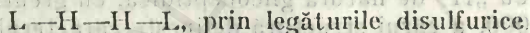
Diferența de natură între lanțurile grele este exprimată în antigenitatea proprie fiecăruia, derivată din secvența aminoacizilor în catena peptidică respectivă. Diferențele de secvență și dimensiuni între lanțurile H ale IgG definesc subclasele Ig: 4 pentru IgG, 2 pentru IgA, 2 pentru IgM:

— un lanț ușor „L” cu greutate moleculară 20 000 comune tuturor imunoglobulinelor. Acesta există în două forme, de tipul  $\kappa$  (Kapa) și tipul  $\lambda$  (lambda). Într-o moleculă de imunoglobuline lanțurile L aparțin unui singur tip  $\kappa$  sau  $\lambda$ . Niciodată nu se întîlnesc ambele tipuri în aceeași moleculă.

Ambele categorii de lanțuri H și L au în structura lor două genuri de regiuni: unele variabile (V) și altele constante (C) din punct de vedere al secvenței aminoacizilor, ce intră în compoziția lor. Simbolic ele se notează sub formele de:  $V_H C_H$  și  $V_L C_L$ .

Modificări de secvență în regiunea constantă a lanțurilor ușoare  $\kappa$  și  $\lambda$  determină apariția de subtipuri ale acestora. Regiunile variabile (V) atît ale lanțurilor ușoare, cît și ale celor grele pot să aibă deosebiri de secvență aminoacidică, din care rezultă subgrupe, notate prin cifre romane (ca de ex.:  $V_I$ ,  $V_{II}$ ,  $V_{III}$ ).

Porțiunea constantă din lanțurile H conține trei regiuni distincte:  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ . Cele cinci clase de imunoglobuline sînt formate din două perechi de lanțuri H și L, asociate în formula:



## XX.6.2. HETEROGENITATEA IMUNOGLOBULINELOR

Marea heterogenitate a imunoglobulinelor, conturată și prin observațiile referitoare la modelul general de structură, se explică prin trei cauze principale: a) specificitate izotipică, b) specificitate allotipică și c) specificitate idiotipică.

a) Specificitatea izotipică este legată de existența la toți indivizii a claselor, subclaselor, tipurilor și subtipurilor menționate. Prin calcul se pot prevedea cel puțin 20 reprezentanți diferiți de IgG, care exprimă specificitatea izotipică a proteinei în cauză.

b) Specificitatea allotipică reflectă variații de structură moleculară, determinate prin gene alele. Diferențele de secvență aminoacidică se înregistrează mai ales în regiunea constantă. Pentru imunoglobulinele umane acești markeri allotipici sînt desemnați ca InV (inhibitori Victor), pe lanțul ușor și Gm (genetic marker) pe cel greu. Pentru sistemul Gm sînt identificate

25 variante pe lanțurile grele, localizate în majoritatea cazurilor în regiunea ușor cristalizabilă a catenei peptidice. Acestea pot fi constituite astfel :

Gm(a+) — Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Asp-Leu-Thr-Lys ;

Gm(a-) — Thr-Leu-Pro-Pro-Ser-Arg-Met-Glu-Glu-Thr-L.

Grupul Gm poate fi util pentru selecția unui donator compatibil în caz de grefă de organ. Sistemul InV identificat pe lanțul Kapa se caracterizează printr-o substituție unică, poziția 19 (leucina) pentru InV<sub>1</sub> și valină pentru InV<sub>2</sub>. În regiunea constantă a lanțului s-au înregistrat variații ale aminoacizilor din pozițiile 154 și 191.

c) Specificitatea idiotypică este legată de individ. Ea caracterizează produsul unei celule unice sau a unei clone celulare (ca în cazul proteinelor mielomatoase). Este proprie unui singur fel de anticorp și unui singur individ dintr-o specie dată. Determinanții idiotipici sînt localizați în situsul de combinare al anticorpilor sau într-o regiune imediat învecinată.

d) La cele trei cauze de heterogenitate prezentate se adaugă o a patra și anume posibilitatea mutațiilor, din care rezultă capacitatea celulelor formatoare de IgG, de a sintetiza fiecare Ig specifice, proprii. O genă stabilă codifică sinteza părții constante a Ig la toate celulele : o genă multiplă V codifică partea variabilă a lanțului peptidic. Acesta poate suferi mutații, fie în timpul vieții unui individ, prin diferențiere somatică și selecție, fie în cursul evoluției și selecției adaptative a mutanților. Rezultatul acestor posibilități este faptul că se poate ajunge la celule care sintetizează lanțuri cu V<sub>L</sub> și V<sub>H</sub> diferite.

### XX.6.3. PROPRIETĂȚI FIZICO-CHIMICE ȘI BIOLOGICE

La om concentrația imunoglobulinelor este în ansamblu de  $5,10^6$  molecule pe mm<sup>3</sup> de sînge. Concentrațiile relative ale imunoglobulinelor din plasma umană pot fi sugestiv reprezentate prin raport de suprafețe (fig. XX.7).

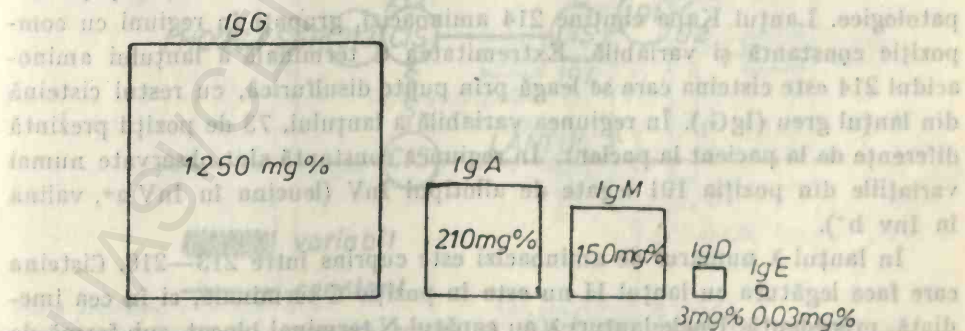


Fig. XX.7 — Concentrația relativă a imunoglobulinelor în ser uman.



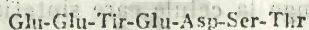
### XX.6.3.1. Citeva aspecte de compoziție chimică și structură

Metodologia de studiu și punere în evidență se bazează pe : electroforeză liberă, electroforeză de zonă, imunoelectroforeză imunodifuzie radială, ultracentrifugare analitică, cromatografie pe coloană de schimbători de ioni (ex. DEAE), cromatografie de afinitate.

În prezent sînt cunoscute date comparative referitoare la compoziția în aminoacizi a principalelor imunoglobuline serice umane ( $\gamma G$ ,  $\gamma A$ ,  $\gamma M$ ) din serul uman normal și patologic (gama — macroglobulinele reacționale și macroglobuline Waldenström). S-au menționat diferențe semnificative între diferitele tipuri. Se insistă asupra faptului că toate categoriile subliniate sînt foarte bogate în anumiți aminoacizi : acid glutamic, prolină, leucină și mai ales serină, treonină.

a) Componenta glucidică este variabilă cantitativ cu clasa imunoglobulinelor, atingînd valoarea cea mai ridicată în IgM și cea mai scăzută IgG.

Ea conține : hexoze (manoză, galactoză), N-acetil-glucosamină, acid sialic și fucoză. S-a studiat mult legătura dintre componenta glucidică și lanțul peptidic H (în care este foarte concentrată). Legătura este de tip imonoeter, care reunește funcția amidă a unui rest de asparagină cu funcția reducătoare a N-acetilglucosaminei. Este deci o legătură glicozil-aminil caracteristică unui număr mare de glicoproteine. Structura lanțului peptidic, vecin punctului de legătură în  $\gamma G$  este :



glican

În M componenta glucidică este foarte importantă, raportul de greutate moleculară fiind de 9 000 daltoni componenta glucidică din cei 70 000 daltoni, greutatea moleculară a lanțului peptidic respectiv. Legătura se face tot prin intermediul unui rest de acid aspartic (ca mai sus).

b) Componenta peptidică. Secvența aminoacidică în lanțurile ușoare sau grele din Ig normale nu a putut fi studiată datorită marii variabilități a componentelor. Proteinele Bence-Jones, izolate în stare de puritate (din urina unor bolnavi cu mielom) asimilate, cu lanțuri ușoare de tip Kapa sau Lambda au dat posibilitatea cunoașterii structurii primare a acestor lanțuri peptidice patologice. Lanțul Kapa conține 214 aminoacizi, grupați în regiuni cu compoziție constantă și variabilă. Extremitatea C terminală a lanțului aminoacidul 214 este cisteina care se leagă prin punte disulfurică, cu restul cisteină din lanțul greu (IgG<sub>1</sub>). În regiunea variabilă a lanțului, 73 de poziții prezintă diferențe de la pacient la pacient. În regiunea constantă sînt observate numai variațiile din poziția 191 legate de alotipul InV (leucina în InV a+, valina în InV b<sup>-</sup>).

În lanțul  $\lambda$  numărul de aminoacizi este cuprins între 213—216. Cisteina care face legătura cu lanțul H nu este în poziție C terminală, ci în cea imediată, precedentă. Unele lanțuri  $\lambda$  au capătul N terminal blocat, sub formă de acid pirolidon-carboxilic (PCA). În regiunea variabilă s-a găsit un număr

de numai 50 de poziții cu aminoacizi variabili de la un individ la altul. În regiunea constantă se cunosc două variații importante: poziția 154 (Kern) și 191 (Oz) (fig. XX.8).

c) *Secvența peptidică a lanțurilor grele.* Din ansamblul datelor obținute, rezultă că lanțul greu conține resturi de 450 aminoacizi, într-o secvență uni-peptidică, repartizați în două regiuni din compoziție constantă și variabilă. Aceasta se leagă de componenta glucidică prin intermediul unui rest de acid aspartic. Au fost elucidate câteva aspecte de structură. Astfel, lanțul gama (din extremitatea N terminală) nu are grupare  $\text{NH}_2$  liberă ci este de tipul acidului piroglutamic (Piro-Glu-Val-Thr). Extremitatea C terminală este de tipul: Ser-Pro-Gli (COOH).

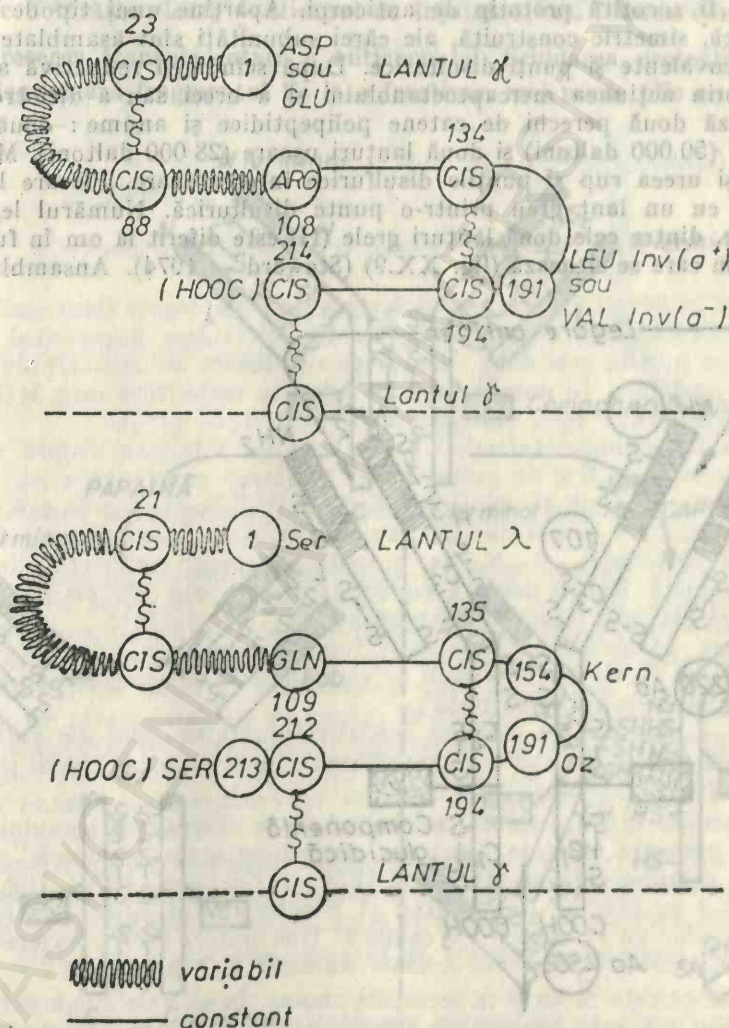


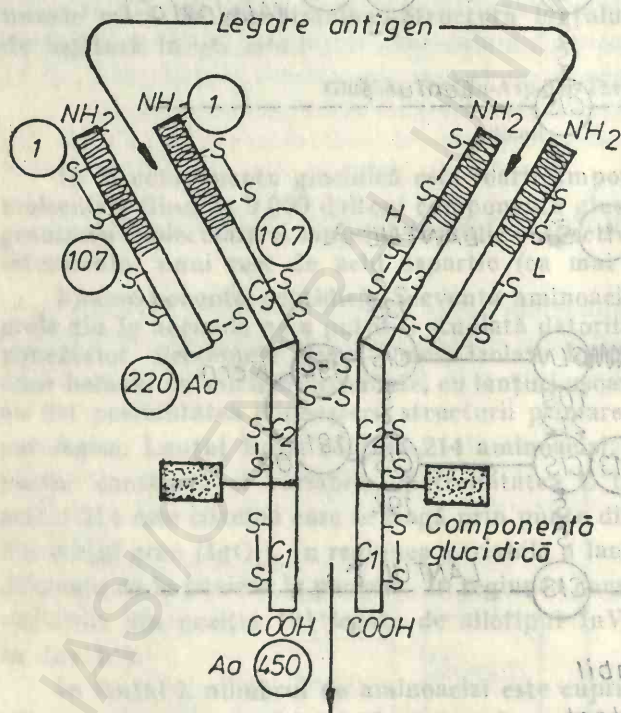
Fig. XX.8 — Structura schematică a lanțurilor ușoare (x, y), din imunoglobuline (după Polonowski, adaptat).



Steiner și Porter au determinat structura primară a fragmentelor peptidice ce iau parte la legătura dintre lanțurile ușoare și cele grele, pentru o imunoglobulină patologică de tip IgG. În această situație s-a subliniat prezența a patru resturi de prolină, prezente în zona de legare a celor două lanțuri grele.

### XX.6.3.2. Clase și structuri particulare ale imunoglobulinelor

IgG reprezintă 70—80% din sistemul gamaglobulinic plasmatic, concentrația sa medie fiind de 12 g/l. Este sintetizată în măduva osoasă, splină, ficat, ganglioni limfatici și este globulina care asigură răspunsul imun secundar. Ea poate fi socotită prototip de anticorpi. Aparține unui tip de proteină tetramerică, simetric construită, ale cărei subunități sînt asamblate prin legături necovalente și punți disulfurice. După scindarea reductivă a acestor legături prin acțiunea mercaptoetanolului și a ureei sau a ditiotreitului, se liberează două perechi de catene polipeptidice și anume: două lanțuri grele „H” (50 000 daltoni) și două lanțuri ușoare (28 000 daltoni). Mercaptoetanorul și ureea rup și punțile disulfurice intercatenare. Fiecare lanț ușor este unit cu un lanț greu printr-o punte disulfurică. Numărul legăturilor disulfurice, dintre cele două lanțuri grele (H) este diferit la om în funcție de subclasa în care se situează (fig. XX.9) (Steward — 1974). Ansamblul struc-



Legare complement  
Legare receptori de suprafață (Fc)

Fig. XX.9 — Structura schematică a unei γ-globuline (adaptare după Porter).

tural a fost schematizat de Porter. După reducerea punților disulfurice, lanțurile peptidice obținute pot fi separate, fie prin cromatografie de filtrare în gel, fie prin electroforeză de zonă (Porter, Cohen, Edelman, Pulik). Scindarea prin hidroliză proteolitică la nivelul așa-numitei regiuni „balama”, flexibilă și ușor accesibilă acțiunii proteolitice, liberează trei fragmente (fig. XX.10). Dintre acestea, două constau în lanțurile ușoare „L” și capătul N-terminal al lanțului greu „H” (F.d.) împreună denumite F(ab) = antigen binding. Fiecare fragment F(ab) conține un singur situs de combinație cu antigenul. Cel de al treilea fragment, denumit Fc (ușor cristalizabil), cu greutate moleculară 50 000 daltoni, conține cele două capete C terminale ale lanțului „H”, unite printr-o legătură disulfurică și legături necovalente. Fragmentul Fc hotărăște clasa,  $\frac{T}{2}$  (timpul de înjumătățire), fixarea complementului și trecerea transplacentară a anticorpului. Scindarea proteolitică prin pepsină degradează fragmentul Fc la o fracțiune mai mică, pFc cu greutate

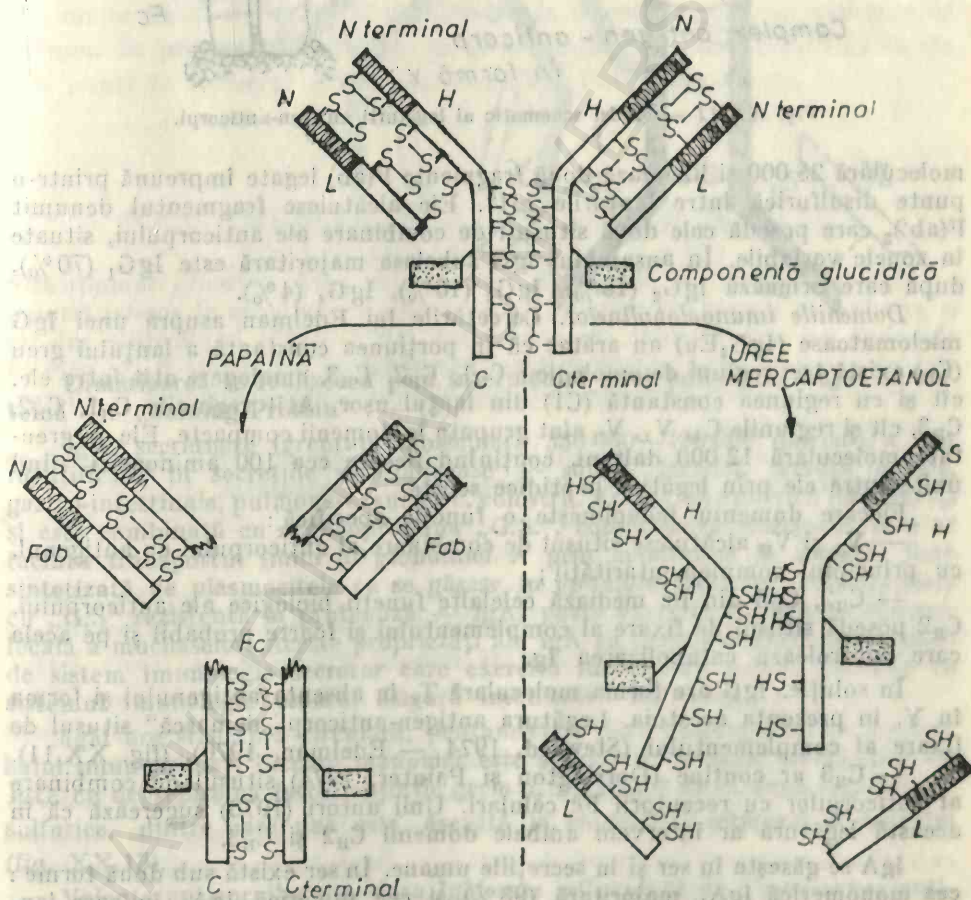


Fig. XX.10. — Cele trei fragmente (2 Fab și 1 Fc) liberate de IgG prin hidroliza proteolitică. Ruperea punților disulfurice prin tratare cu mercaptoetanol și uree.



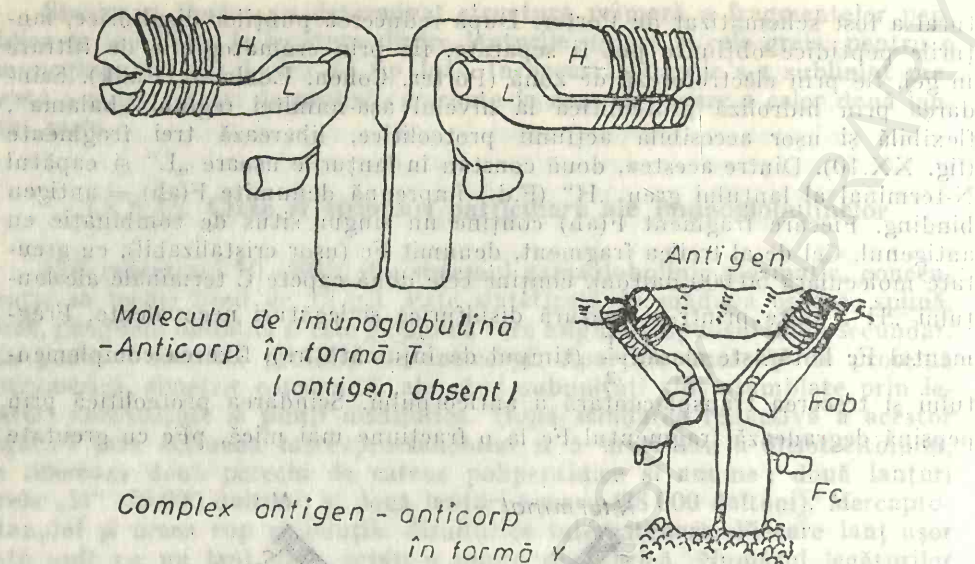


Fig. XX.11 — Model schematic al legăturii antigen-anticorpi.

moleculară 25 000 și liberează două fragmente  $F(ab)$  legate împreună printr-o punte disulfurică între lanțurile „H”. Ele alcătuiesc fragmentul denumit  $F(ab')_2$  care posedă cele două situsuri de combinare ale anticorpului, situate în zonele variabile. În ansamblul  $IgG$  subelasa majoritară este  $IgG_1$  (70%), după care urmează  $IgG_2$  (16%),  $IgG_3$  (10%),  $IgG_4$  (4%).

**Domeniile imunoglobulinelor.** Cercetările lui Edelman asupra unei  $IgG$  mielomatoase ( $IgG_1Eu$ ) au arătat că în porțiunea constantă a lanțului greu ( $C_H$ ) există trei regiuni de omologie:  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ , omologare atît între ele, cit și cu regiunea constantă ( $C_L$ ) din lanțul ușor. Atît regiunile  $C_{H1}$ ,  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$ , cit și regiunile  $C_L$ ,  $V_L$ ,  $V_H$  sint grupate în domenii compacte. Ele au greutate moleculară 12 000 daltoni, conținînd fiecare cca 100 aminoacizi, fiind unite între ele prin legături peptidice scurte.

Fiecare domeniu îndeplinește o funcție specifică:

—  $V_L$  și  $V_H$  alcătuiesc situsul de combinare al anticorpului cu antigenul, cu principiul complementarității;

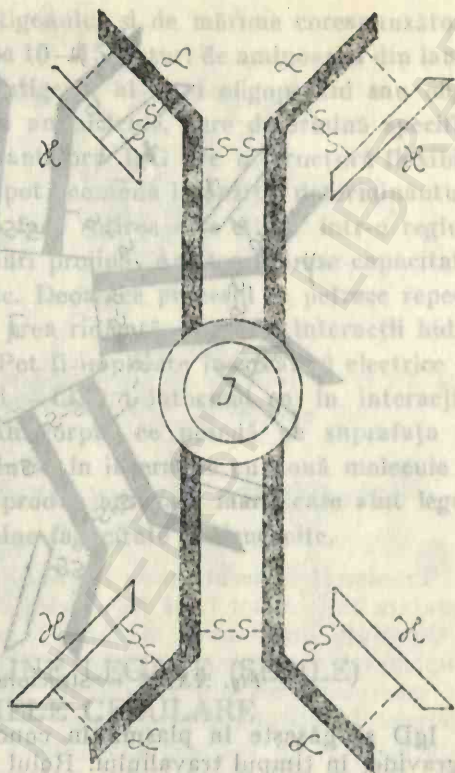
—  $C_{H2}$ ,  $C_{H3}$  din  $Fc$  mediază celelalte funcții biologice ale anticorpului.  $C_{H2}$  posedă situsul de fixare al complementului și foarte probabil și pe acela care controlează catabolizarea  $Ig$ .

În soluție,  $IgG$  are forma moleculară T, în absența antigenului și forma în Y, în prezența acestuia. Legătura antigen-anticorp „demască” situsul de fixare al complementului (Steward, 1974 — Edelman, 1970), (fig. XX.11).

—  $C_{H3}$  ar conține (Dorrington și Painter, 1974) situsul de combinare al anticorpilor cu receptorii  $Fc$  celulari. Unii autori (1976) sugerează că în această legătură ar interveni ambele domenii  $C_{H2}$  și  $C_{H3}$ .

$IgA$  se găsește în ser și în secrețiile umane. În ser există sub două forme: cea monomerică  $IgA_1$ , majoritară (93%) și cea dimerică  $IgA_2$  în care lanțurile ușoare sint dimerizate prin legături disulfurice și unite cu lanțurile grele de hidrogen (fig. XX.12).

Fig. XX.12 — Structura IgA dimerică.



Dimerizarea se realizează prin intermediul unui polipeptid bogat în cisteină — „Joining-Protein” — (J).

IgA<sub>2</sub> secretoare (greutate moleculară 380 000—400 000 daltoni) a fost identificată în secrețiile sero-mucoase — salivă, lacrimi, secreții nazale, gastro-intestinale, pulmonare, sudoare, colostru. Are forma dimerică (80—90%) și este combinată cu o glicoproteină „G.S.”, componenta secretorie, care ar facilita transportul imun al globulinei A prin membrane în secreții. Este sintetizată de plasmocitele ce se găsesc în epiteliile mucoase. Prin asociere cu „G.S.” rezistentă la proteoliză — IgA<sub>2</sub> poate exercita funcția de apărare locală a mucoaselor. Aceste proprietăți ale IgA au permis conturarea noțiunii de sistem imunologic secretor care exercită imunitatea locală, în timp ce sistemul imunologic umoral asigură imunitatea sistemică.

IgM are structură circulară, pentamerică. Este imunoglobulina răspunsului imun primar. Fiecare monomer este structurat în mod asemănător cu IgG, cu deosebire că între lanțurile grele  $\mu$ , nu există decât două legături disulfurice, dintre care una este așezată la capătul C terminal al lanțului (fig. XX.13).

Valența anticorpilor din clasa IgM este influențată de dimensiunea antigenului. Pentru dextran de diferite greutăți moleculare, valența anticorpului variază între 2—10.



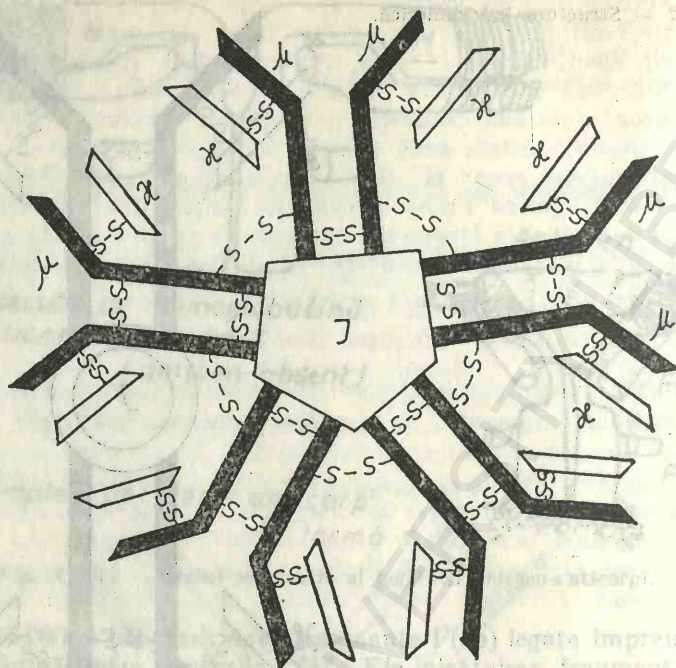


Fig. XX.13. — Structura pentametrică IgM.

IgD se găsește în plasmă în concentrație mică, crescută semnificativ la gravide, în timpul travaliului. Rolul specific ca anticorp al acestei imunoglobuline nu este elucidat. Se conturează (1973—1975) implicațiile sale în alcătuirea receptorilor pentru antigen, în special pe limfocitele B. Se pare că receptorii IgD de pe limfocite ar fi stimulatorii pentru diviziunea și diferențierea acestor celule.

IgE conține anticorpii reaginici (Ishizaka și colab., 1967) răspunzând de reacțiile de hipersensibilitate imediată de tip anafilactic.

## XX.7. SITUSUL DE COMBINARE AL ANTICORPILOR.

### REAȚIA ANTIGEN-ANTICORP

Se știe în prezent că atât segmentele  $V_H$ , cât și  $V_L$  alcătuiesc situsul de combinare fără a se cunoaște exact măsura precisă a contribuțiilor relative. S-au efectuat studii interesante, pe baza metodei de marcarea prin afinitate, care vin în sprijinul aserțiunii de mai sus. Situsul este așezat în fragmentele  $F(ab)$ , alcătuit din lanțul L și fragmentul  $F_c$  din lanțul H.

Se pare că partea  $V_H$  este preponderent implicată în legarea antigenului. Se presupune că situsul de legare a moleculei de anticorpi este ca o despică-

tură cu structură complementară antigenului și de mărime corespunzătoare acestuia. Se acceptă că situsul cuprinde 10—15 resturi de aminoacizi din lanțul peptidic. Mărimea determinantului antigenic al unui oligopeptid sau oligozaharid, corespunde la 10—15 resturi aminoacide, care determină specificitatea legăturii. Deoarece molecula de anticorp IgG are o structură flexibilă, cele două ramuri în formă de „Y” se pot acomoda la poziția determinantului antigenic. Punctul în jurul căruia se face rotirea este situat într-o regiune a lanțului, care posedă un șir de resturi prolină. Acestea măresc capacitatea de rotație liberă a lanțului polipeptidic. Deoarece procesul se petrece repede, energia de legătură nu trebuie să fie prea ridicată. Intervin interacții hidrofobe, se stabilesc punți de hidrogen. Pot fi implicate încărcături electrice diferite (sarcini ale grupelor  $-\text{NH}_3^+$  și  $-\text{COO}^-$ ) întocmai ca în interacțiile enzimă-substrat, receptor-hormon. Anticorpul ce posedă pe suprafața lui mai multe locuri de legătură, poate intra în interacție cu două molecule de antigen. În prezența anticorpilor se produc agregate mari, care sînt legate prin punți de anticorpi și sînt mai bine fagocitate de leucocite.

## XX.8. IMUNOGLOBULINE LEGATE (SESILE) DE MEMBRANELE CELULARE

### XX.8.1. RECEPTORII DE SUPRAFAȚĂ AI CELULELOR IMUNOCOMPETENTE

Procesul de recunoaștere imunologică este un fenomen ce se realizează la suprafața celulelor antigen-reactive, prin intermediul receptorilor imunoglobulinici, specifici pentru antigen. Este unanim acceptat că limfocitele B posedă receptori imunoglobulinici, detectabili prin imunofluorescență. Prezența acestor receptori imunoglobulinici pe limfocitele T este controversată. Totuși, chiar dacă există, ei nu sînt accesibili anticorpilor fluorescenți specifici, fapt care pare să țină de așezarea în membrana celulară. Un model ipotetic datorat lui Marchalonis J. și R. Cone pentru situarea receptorilor imunoglobulinici în membrană, explică diferența dintre leucocitele B și T.

Pentru limfocitele B este admis că regiunea F(ab) și cea mai mare parte a regiunii Fc sînt libere la suprafața celulei.

Pentru limfocitele T regiunea Fc este aproape în întregime ascunsă între diferitele componente de suprafață din membrană. Totuși ambele tipuri de celulă ar putea fixa antigenul, deoarece domeniile variabile ale lanțurilor L și H, în care este situat situsul de combinare, este liber (fig. XX.14).



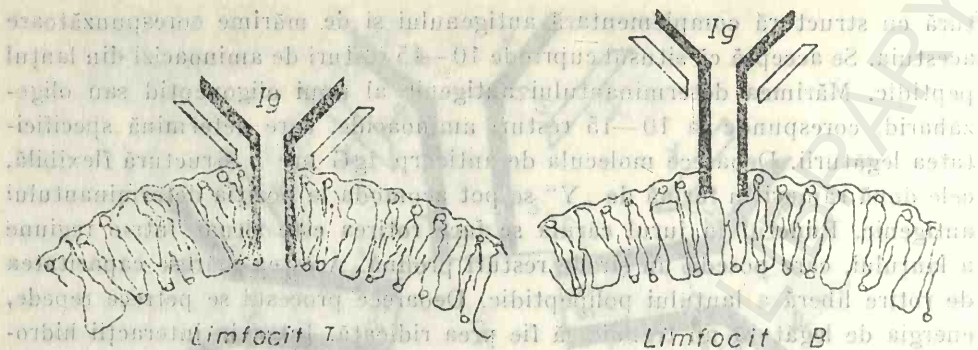


Fig. XX.14 — Model ipotetic pentru situarea receptorilor imunoglobulinici în membrana limfocitelor T (adaptat după I. Marschalonis și R. Cone).

## XX.8.2. BETA<sub>2</sub>-MICROGLOBULINE ȘI ANTIGENELE HL-A

În cercetări recente se ia în considerație posibilitatea ca receptorii de pe suprafața limfocitelor T, să fie asociați cu  $\beta$ -2-microglobulinele. Acestea există pe suprafața limfocitelor în două forme moleculare: ca parte integrantă a complexului de histocompatibilitate HL-A și ca moleculă liberă nelegată cu alte macromolecule din membrană. Studiile lui Ströminger și colab. (1976) sugerează identitatea lanțului ușor al antigenelor HL-A (de histocompatibilitate majoră) cu  $\beta$ -2-microglobulinele. Acestea au trăsături structurale comune cu regiunile de omologie constantă ale lanțurilor Ig ușoare, cit și ale celor grele ( $C_L$ ,  $C_H1$ ,  $C_H2$ ,  $C_H3$ ). În mod special este subliniată asemănarea cu regiunile carboxiterminale  $C_H3$ ,  $C_H4$ . Proprietățile microglobulinelor sugerează că gena codificatoare s-a născut dintr-o genă precursoră, care prin duplicare condiționează lanțurile imunoglobulinice și grele.

Receptorii pentru antigen aparțin mai ales clasei IgM și IgD; un număr mic de limfocite (sub 1%) posedă receptorii IgG sau IgA. Pe lângă receptorii imunoglobulinici, limfocitele și macrofagele posedă și receptori pentru imunoglobuline, implicați în fenomenele de interrelație celulară, ce conduc la realizarea răspunsului imun. Pe suprafața limfocitelor B se găsesc receptorii Fc — de natură proteică sau glicoproteică — pentru porțiunea C terminală a moleculelor de imunoglobuline. Pot fi identificați prin celule „inducătoare”, sensibilizate (eritrocite de oaie), ce aderă la limfocite realizând forme desemnate ca „rozeta EA”. Se mai găsesc pe aceeași suprafață receptori C’ pentru complement identificați cu eritrocite de oaie sensibilizate cu anticorpi și incubate cu complement. Se produc așa-numitele „rozete EAC” (fig. XX.15). Macrofagele posedă și ele receptori Fc și C’ (fig. XX.16).

Pe baza existenței acestor receptori, atât a celor imunoglobulinici pentru antigene specifice, cit și a receptorilor pentru imunoglobuline (Fc) s-au elaborat modele pentru interacțiunile celulare atât în imunitatea umorală, cit și în cea celulară.

Taussing și Munro plecând de la ipoteza existenței unor receptori de suprafață neimunoglobulinici, produși ai genelor de răspuns imun (Ir) au elaborat

Fig. XX.15 — Receptorii de suprafață pe limfocite B; rozetă EA, rozetă EAC.

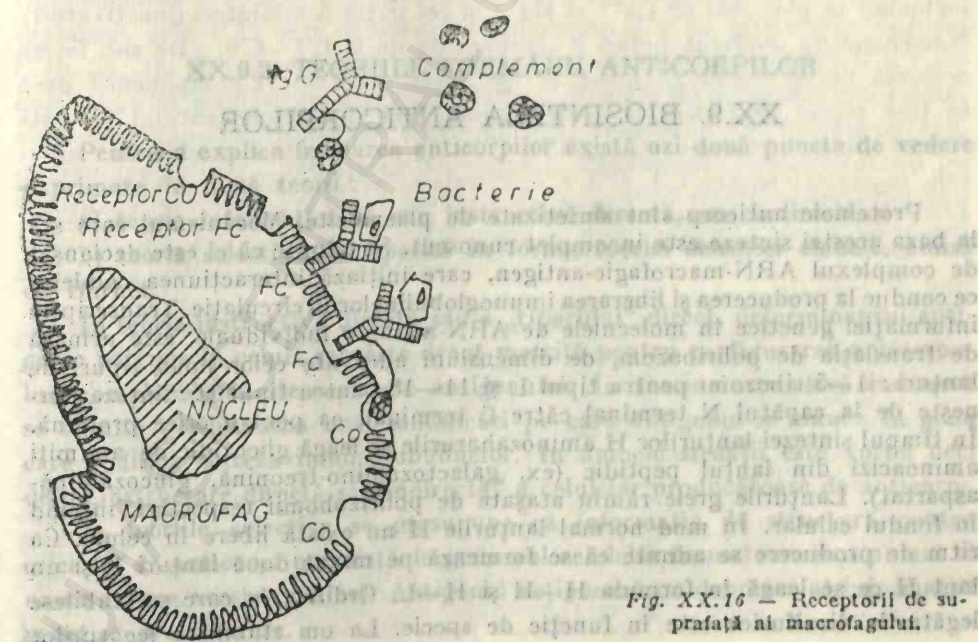
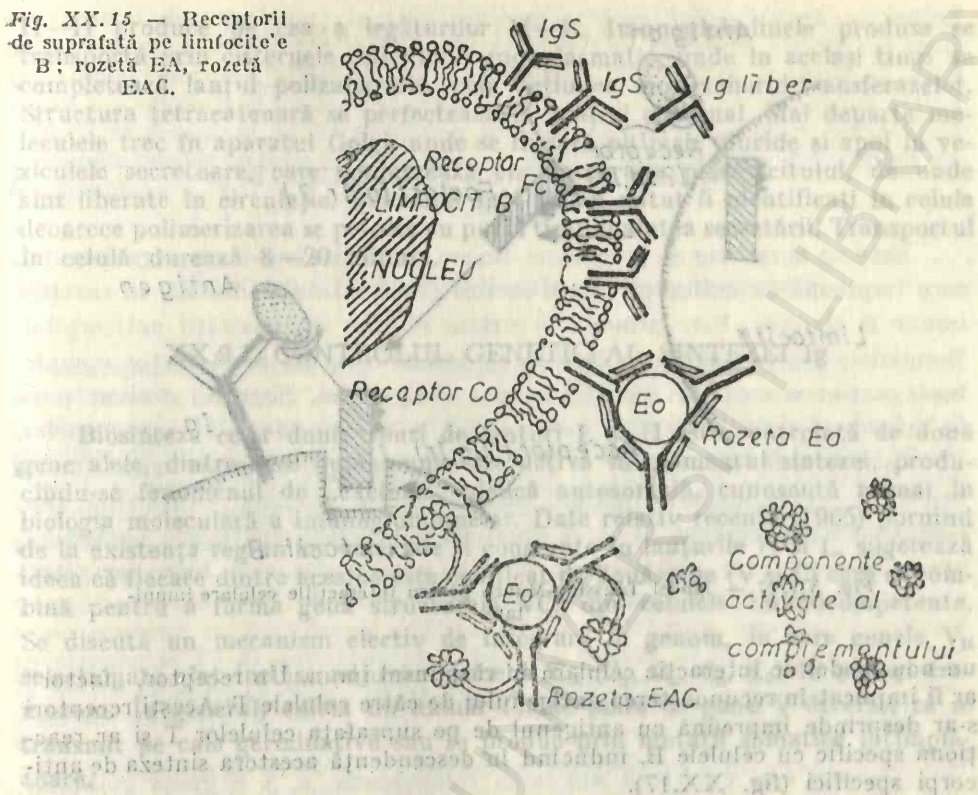


Fig. XX.16 — Receptorii de suprafață ai macrofagului.



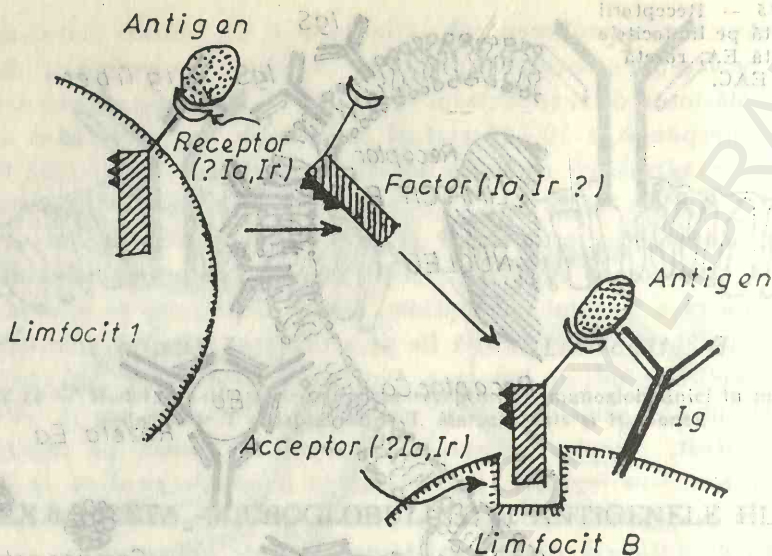


Fig. XX.17 — Model Taussing-Munro pentru interacțiile celulare imunitare.

un nou model de interacție celulară în răspunsul imun. Un receptor, „factor” ar fi implicat în recunoașterea antigenului de către celulele T. Acești receptori s-ar desprinde împreună cu antigenul de pe suprafața celulelor T și ar reacționa specific cu celulele B, inducând în descendență acestora sinteza de anticorpi specifici (fig. XX.17).

## XX.9. BIOSINTEZA ANTICORPILOR

Proteinele anticorp sint sintetizate de plasmocite. Mecanismul care stă la baza acestei sinteze este incomplet cunoscut. Se admite că el este declanșat de complexul ARN-macrofag-antigen, care inițiază interacțiunea celulelor ce conduc la producerea și liberarea imunoglobulinelor în circulație. Transcripția informației genetice în moleculele de ARN-mesager individuale, este urmată de translația de poliribozom, de dimensiuni adecvate celor două tipuri de lanțuri: 4—5 ribozomi pentru tipul L și 11—18 pentru tipul H. Sinteza pornește de la capătul N terminal către C terminal, ca pentru orice proteină. În timpul sintezei lanțurilor H aminozaharurile se leagă glicozidic de anumiți aminoacizi din lanțul peptidic (ex. galactozamino-treonină, glucosamină-aspartat). Lanțurile grele rămân atașate de poliribozomii respectivi, intrând în fondul celular. În mod normal lanțurile H nu există libere în celulă. Ca ritm de producere se admite că se formează pe minut două lanțuri L și un lanț H ce se leagă în formula H—H și H—L. Ordinea în care se stabilesc legăturile disulfurice este în funcție de specie. La om stabilirea legăturilor

H—H produce pe cea a legăturilor H—L. Imunoglobulinele produse se transportă prin cisternele reticulului endoplasmatic, unde în același timp se completează lanțul polizaharidic, prin acțiunea monozaharid-transferazelor. Structura tetracatenară se perfectează în spațiul cisternal. Mai departe moleculele trec în aparatul Golgi, unde se fixează ultimele glucide și apoi în veziculele secretoare, care conlucrează cu membrana plasmocitului, de unde sînt eliberate în circulație. Polizomii IgM nu au putut fi identificați în celule deoarece polimerizarea se petrece cu puțin timp înainte secretării. Transportul în celulă durează 8—20 minute.

## XX.9.1. CONTROLUL GENETIC AL SINTEZEI Ig

Biosinteza celor două tipuri de lanțuri L și H este controlată de două gene alele, dintre care numai una este activă în momentul sintezei, producîndu-se fenomenul de „excluzie” alelică autosomală, cunoscută numai în biologia moleculară a imunoglobulinelor. Date relativ recente (1965) pornind de la existența regiunilor variabile și constante în lanțurile H și L, sugerează ideea că fiecare dintre acestea este codificat de două gene (V și C) care se combină pentru a forma gena structurală VC, din celulele imunocompetente. Se discută un mecanism electiv de integrare în genom, în care genele  $V_H$  selecționate sînt incluse adjuvant genelor  $C_H$  ( $C_{\gamma}$ ,  $C_{\mu}$ ,  $C_{\alpha}$ ,  $C_{\delta}$ ) în același cromozom. În general, există un număr foarte mare de gene V diverse, ce se transmit pe cale germinativă sau se produc prin mutații somatice întîmplătoare.

## XX.9.2. TEORIILE FORMĂRII ANTICORPILOR

Pentru a explica formarea anticorpilor există azi două puncte de vedere exprimate în două teorii:

- a) teoria informațională sau instructivă directă, sau indirectă și
- b) teoria selectivă, în special în forma teoriei selecției clonale, emisă de Burnet.

În teoria instructivă directă sau a „tiparului” direct, determinantul antigenic pătruns în celulă servește drept matrișă pentru configurarea anticorpului, complementar stereochimic antigenului. În teoria instructivă indirectă se admite posibilitatea unei modificări pe care antigenul o induce în gena care codifică sinteza imunoglobulinelor. În ambele situații este vorba deci de o „instrucție directă sau indirectă” a celulelor producătoare de anticorpi. În teoriile selective se presupune că informația de structură pentru orice fel de anticorpi preexistă în genomul celulelor formatoare sau numai al unora dintre acestea (clone). Antigenul acționează ca depresor al informației genetice preexistente.



## XX.10. FACTORI ȘI MECANISME DE REZISTENȚĂ NESPECIFICĂ

### XX.10.1. SISTEMUL COMPLEMENT

Este un ansamblu de proenzime din ser și din alte umori ale organismului, care împreună cu anticorpii și alți factori joacă rol de mediatori, în reacțiile imune și alergice. Este principalul sistem efector al activității anticorpilor. Denumirea i-a fost dată de Bordet cu semnificația că acest factor completează acțiunea corpurilor specifice asupra antigenului. Sistemul activat pune în mișcare o serie de procese care conduc la distrugerea microorganismelor. El poate deveni însă agresiv și față de structurile proprii ale organismului respectiv. Corespunzător faptului consemnat de Büchner — alexina (sau complementul) prezintă în serul proaspăt și necesară distrugerii bacteriilor, apare filogenetic la poikiloterme (amfibii, pești) dar este bine dezvoltată numai la vertebratele homeoterme.

#### XX.10.1.1. Nomenclatura și biochimia complementului

Sistemul este constituit din nouă componente,  $\alpha$ ,  $\beta$  și gama globuline, incluzând în plus ioni de  $\text{Ca}^{++}$  și  $\text{Mg}^{++}$  și cel puțin 5 inhibitori (inactivatori). Nomenclatura modernă indică 9 componente de la C'1—C'9, care sub forma activată au ca simbol C'1a —C'9a. Se poate vorbi de 11 componente dacă se ține seama de faptul că primul component al complementului C'1 este format din trei proteine: C'1q, C'1r, C'1s. În ser se găsesc inactivatori naturali, în special pentru C'1, C'3, C'6. Cifrele ce servesc la desemnarea proteinelor complementului corespund ordinii în care ele intră în reacție, în hemoliza umană cu excepția componentei C'4, care reacționează după C'1 și înainte de C'2.

Cele trei proteine ce alcătuiesc componenta C'1 sînt asamblate într-un complex macromolecular, stabilizat prin ionii de  $\text{Ca}^{++}$ . Complexul poate fi disociat prin chelatarea  $\text{Ca}^{++}$ , iar subunitățile componente pot fi separate în continuare prin ultracentrifugare și cromatografie pe DEAE celuloză.

C'1q poartă situsul de combinare al lui C'1 cu complexul antigen-anticorp, identificat cu componentul 11, 1S. Prin afinitatea sa pentru anticorpi el face legătura funcțională între anticorpi și sistemul complement. C'1q conține o mare cantitate de glicină, hidroxiprolină și lizină, care denotă o analogie cu colagenul. C'1s este denumită și C'1-esteraza și există sub forma de proenzimă sau proesterază. După activare poate hidroliza „in vitro” substraturi

cu caracter de esteri, iar „in vivo“ se comportă ca polipeptidază, acționând asupra componentelor C'4 și C'2 substraturile sale naturale. Dintre cei cinci inactivatori naturali ai sistemului complement, menționăm prezența în serul uman a  $\alpha_2$ -globulinei cu acțiune frenatoare asupra C'1-esterazei (forma activă a lui C1s) desemnat ca EI (inhibitor al esterazei). Prin scindare proteolitică a componentelor sistemului complement se produc fragmente de mărime diferită notate a, b.

#### XX.10.1.2. Unități funcționale ale complementului

Componentele sistemului complement lucrează printr-un lanț de reacții de activare în „cascadă“ analog celor ce se petrec în fenomenele de coagulare și fibrinoliză. Activarea complementului este precedată obligatoriu de o fază specifică de formare a complexului antigen-anticorp, pe care se fixează nespecific C'1, declanșând activarea secvențială a celorlalte componente. Cele 11 componente proteice ale sistemului complement pot fi considerate în esență ca subunități a 3 unități funcționale macromoleculare, după cum urmează :

a) unitatea de identificare și alarmă, macromolecula C'1q, care „recunoaște“ non-selful. C'1q este elementul de identificare având capacitatea de a se combina cu complexe antigen-anticorp, datorită receptorilor situați pe segmentul Fc al anticorpului. C'1q este activat de triptofanul conținut în lanțul peptidic al anticorpului. Numai imunoglobulina M și anumite subclase ale imunoglobulinei G (IgG) au capacitatea de a fixa și activa gruparea C'1q rs.

b) Unitatea de activare a elementelor răspunzătoare de citoliză cuprinde componentele C'4, C'2, C'3, derivatele lor și ionii de  $Mg^{++}$ . Procesul este declanșat prin C'1s care scindează componenta C'4 cu producerea enzimei C'4b, 2a, 3b, cu rol capital în activare, având ca substrat proteine C'5. Concomitent sînt mediate reacții inflamatorii cu liberare de histamină din mastocite; anafilatoxine, leucocite și trombocite, fenomene de imunoaderență, de imunoaglutinare, facilitarea fagocitozei. Intervenția complementului în fagocitoză reprezintă cel mai important rol biologic al acestui sistem. Factorii rezultați din activarea complementului sau unii anticorpi care favorizează fagocitoza sînt denumiți opsonine.

c) Unitatea de citoliză propriu-zisă cuprinde proteinele C'5b, C'6b, C'7b, C'8b, C'9b. Complexul trimolecular C'5b, 6, 7 reprezintă primul stadiu al unității de citoliză C5b-9, care lizează membranele celulare. Combinația complexului C'5b, 6, 7 cu hematiile poate conduce la pătrunderea sa în dublul strat fosfolipidic al membranei eritrocitare. Leziunile membranei, perforarea acesteia apar după intervenția componentelor C8, C9. În primul stadiu concomitent cu și prin scindarea proteinei C5 se produce factorul chimiotactic C5a, care are și capacitatea de a media liberarea de histamină în celulele în care este depozitată (mastocite). Mecanismul de acțiune al celor trei unități funcționale macromoleculare ale complementului este redat în fig. XX.18.



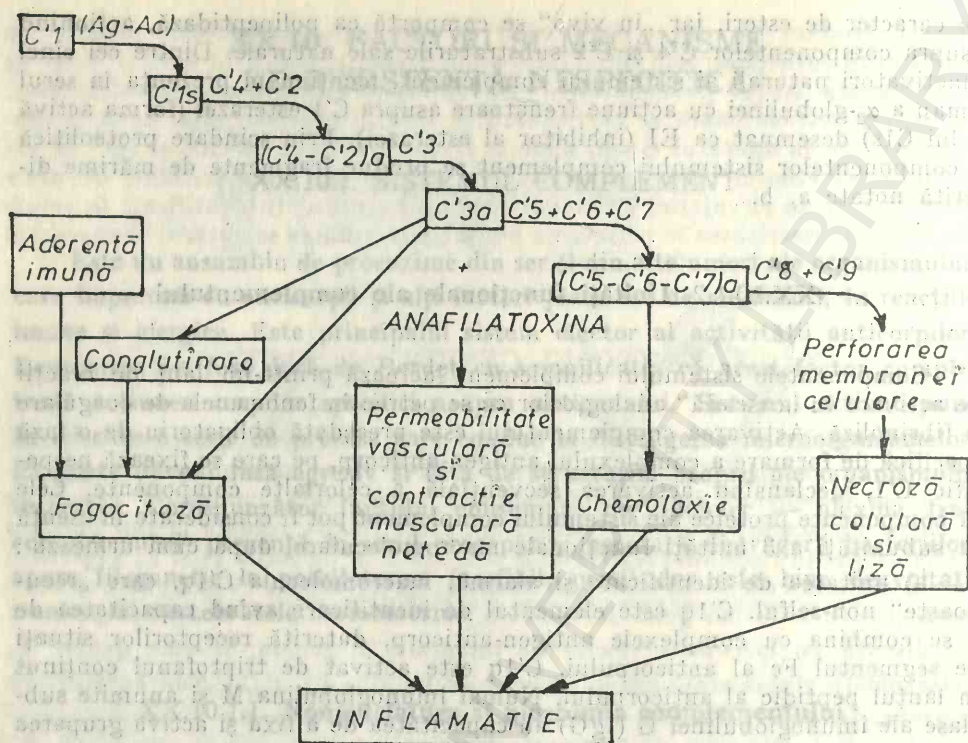


Fig. XX.18 — Mecanismul de acțiune al celor trei unități funcționale ale sistemului complement (litera a indică starea activată).

### XX.10.1.3. Mecanismul de activare a complementului

În esență și până în prezent, sînt acceptate două căi de activare: — activarea completă sau hemoliza imună care se realizează printr-o activare secvențială a tuturor componentelor, deci completă;

— o cale sîntată (alternă sau properdinică) care implică numai activarea componentelor terminale (de la C3-C9).

Ambele căi coexistă în organism și se pot suplini în situații de necesitate, create prin deficiențe calitative sau cantitative ale unora.

Fenomenele biologice în care intervine sistemul complement sînt fenomene de citotoxicitate cu citoliza sub cele două forme mai importante: hemoliza autoimună și bacterioliza, fenomene inflamatorii (chemotaxia, fagocitoză, imunoaglutinarea etc.), fenomenele de coagulare, prin activarea factorului Hageman, activarea coagulării intravasculare a plasminogenului, fibrinolizei, calicreinei cu apariție de substanțe vasoactive (bradichinină) cu vazodilatație și creșterea permeabilității vasculare.

În patologia înăscută a complementului se cunosc la om deficiențe și anomalii: deficiența de C'1 (edem angioneurotic ereditar), deficiențe privind componentele C'1q, r, s și C'2, C'4, C'3, C'5. Se cunosc și anomalii ale componentelor terminale ale sistemului. În patologia dobândită, sînt investigate variațiile complementului în stări infecțioase, în lupusul eritematos difuz. În cazul rejecției de grefă complementul intervine indirect prin activarea C'4 și C'3, conglutininelor și creșterea catabolismului componentelor.

## XX.10.2. PROPERDINA

Properdina este o euglobulină a cărei acțiune face ca zimozanul, un polii zaharid din drojdie, să anihileze complementul prin absorbția C'3. Consecința absorbției serului cu poliozidul respectiv este pierderea capacități bactericide, în special față de germenii Gram<sup>+</sup> și a celei virulice și hemolitice. Acțiunea properdinei este corelată cu a sistemului complement. Ocolind primii factori ai complementului, ea determină o activare a C'3 și a secvenței următoare a componentelor. Se pare că la om și animale există o relație între nivelul properdinei și imunitatea naturală. Nivelul seric scade la cancerosi și ca efect nociv al radiațiilor ionizante.

## XX.10.3. INTERFERONUL

Celulele infectate cu un virus produc o proteină specifică, interferonul, substanță care interferează cu înmulțirea virusurilor. Este probabil ca ARN dublu catenar al virusurilor să fie inductorul formării interferonului. Elaborarea interferonului poate fi stimulată prin polinucleotide sintetice cu greutate moleculară ridicată (100 000) sau prin polianioni. Interferonul uman este heterogen. El posedă o unitate de bază cu o greutate moleculară de 12 000. Heterogenitatea interferonului rezultă atît din numărul variabil de oligomeri, cît și din diferențele de încărcătură electrică, în funcție de conținutul în acid sialic al unității respective.

Mecanismul său de acțiune nu este elucidat. Există două ipoteze, mai importante, care încearcă să explice acest mecanism:

- nivelul de intervenție al interferonului ar fi acțiunea sa asupra ARN-polimerazei;
- interferonul ar induce sinteza unei proteine antivirale care devine agentul inhibitor al înmulțirii diferitelor feluri de virusuri. Interferența poate avea o deosebită importanță practică. O imunizare cu vaccin viu (slab) de virus poliomielitice poate condiționa apărarea mucoasei intestinale, față de alte enterovirusuri, datorită acțiunii directe sau indirecte a interferonului.



Lizozimul (muramidaza) sau N-acetilmuramid-glicano-hidrolaza, este o proteină enzimatică, puternic bazică, cu punct izoelectric 10,9 și cu greutate moleculară 14.500. A fost obținut în stare cristalină (din albușul de ou). În prezent sînt cunoscute structura și secvența sa aminoacidică. Cei 140 aminoacizi constitutivi sînt așezați într-un singur lanț peptidic cu cinci punți disulfurice intracatenare. Are cca 25% din resturile aminoacidelor în regiuni structurale  $\alpha$ -helicoidale. Aproape toate grupările polare sînt la exteriorul moleculei, iar cele hidrofobe către interior. Din punct de vedere enzimatic este  $\beta$ -glucozaminidază ce hidrolizează legăturile glicozidice, specifice, între resturile aminozaharurilor, N-acetilglucozamina și acidul N-acetil-muraminic, așezate alternant. Substratul său natural este mureina. Recent s-au obținut modele de difracție cu raze X pentru cristalele de lizozim legate cu un substrat oligozaharidic. Legarea substratului produce modificări conformaționale ale enzimei.

Mecanismul de acțiune și structura lizozimului din jurul situsului catalitic sînt redate în fig. XX.19 (după Lehninger — adaptat). Modelul ilustrează ipoteza că restul acid glutamic din poziția 35 și restul acid aspartic din poziția 52 din lanțul peptidic al lizozimului, cooperează pentru a produce hidroliza legăturii glicozidice a substratului. Un atom de hidrogen din restul aminoacidului Glu-35, acționează asupra legăturii glicozidice dintre cele două resturi glucidice: carboxilul restului acid aspartic-52, stabilizează ionul carbon (din poziția C<sub>1</sub>) al inelului N-acetil-muraminil NAM.

Lizozimul este prezent la om în lacrimi, salivă, secreție, mucoasă digestivă, plasmă etc. El provoacă liza mai multor bacterii Gram+ dizolvînd peretele celular prin hidroliza legăturilor 1,4-glicozidice ale scheletului polizaharidic al mureinei. Peretele bacteriilor Gram+ este mai rigid, iar al celor Gram- mai suplu, datorită bogăției de lipide și lipoproteine.

## XX.10.5. REACȚII DE HIPERSENSIBILITATE

Sînt cunoscute două moduri de reacții de hipersensibilitate:

— de tip imediat, avînd la bază reacția antigenelor cu anticorpii solubili. În această modalitate reacțională intră șocul anafilactic\*, fenomenul Arthus\*\*, Schwartzman-Sanerelli\*\*\*, boala serului\*\*\*\*;

\* Șoc anafilactic se produce la rejectarea antigenului și este caracterizat prin: scăderea TA, numărului trombocitelor și a coagulabilității singelui, dispnee, bronhospasm, lezarea ficatului etc.

\*\* Hipersensibilitate locală, manifestată ca inflamație, după injecții repetate ale unui antigen în același punct.

\*\*\* Necroză locală la locul de injecție, după introducerea intravenoasă (repetată) a antigenului.

\*\*\*\* Boala serului caracterizată prin: edeme, reacții urticariene, artralгии provocate după injectarea unui ser.

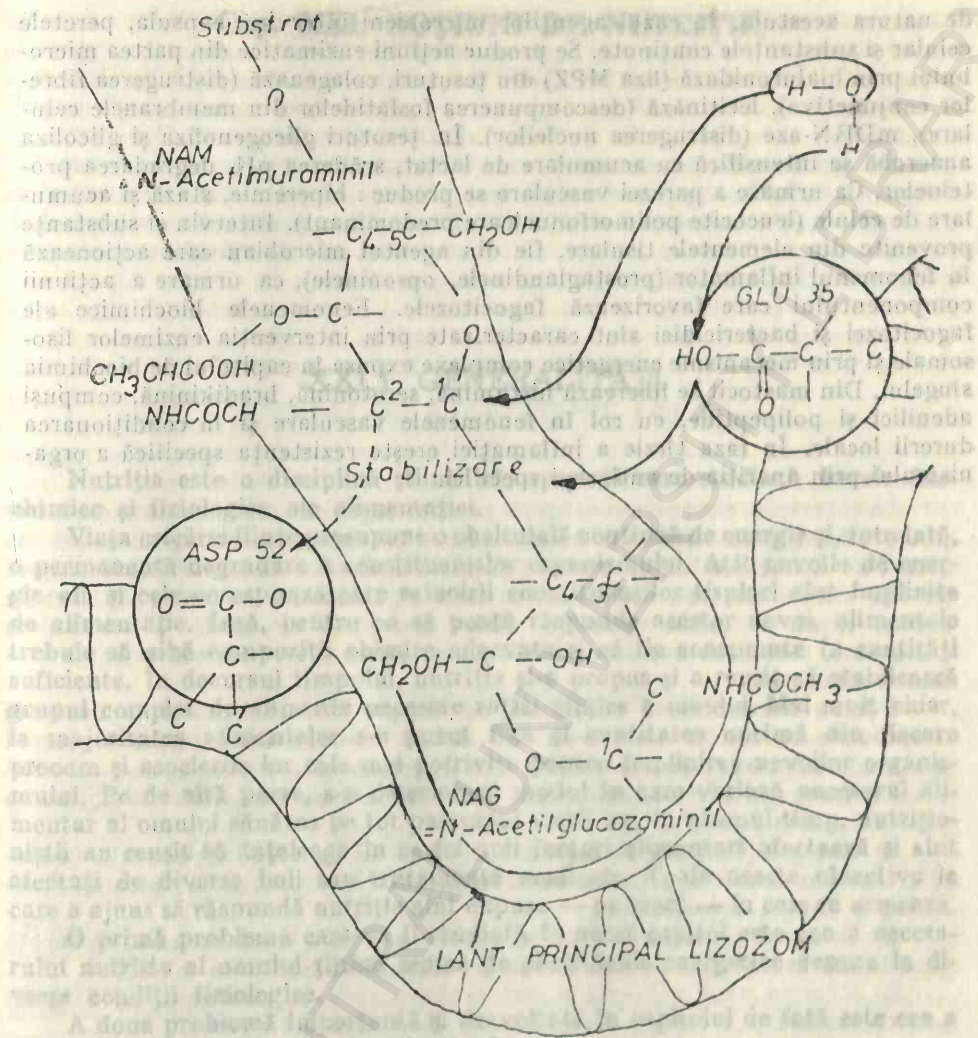


Fig. XX.19 — Mecanismul de acțiune al lizozimului — rolul acidului glutamic din poziția 35 și al acidului aspartic din poziția 52.

— de tip întârziat, mediat celular prin limfocitele T, ca în fenomenul de rejecție a grefelor.

Din punct de vedere biochimic simptomatologia acestor manifestări este corelată cu revărsare de histamină, serotonină și heparină (din mastocite).

Există analogii între reacțiile de hipersensibilitate și cele inflamatorii. Inflamația trece prin mai multe faze în care intervin și factori biochimici cunoscuți. Faza conflictului dintre agresor și țesut produce acțiuni determinate



de natura acestuia. În cazul agenților microbieni intervin: capsula, peretele celular și substanțele conținute. Se produc acțiuni enzimatică din partea microbului prin hialuronidază (liza MPZ) din țesuturi, collagenază (distrugerea fibrelor conjunctive), lecitinază (descompunerea fosfatidelor din membranele celulare), mDRN-aze (distrugerea nucleilor). În țesuturi glicogenoliza și glicoliza anaerobă se intensifică cu acumulare de lactat, scăderea pH, degradarea proteinelor. Ca urmare a parezei vasculare se produc: hiperemie, stază și acumulare de celule (leucocite polimorfonucleare predominant). Intervin și substanțe provenite din elementele tisulare, fie din agentul microbial care acționează în fenomenul inflamator (prostaglandinele, opsoninele), ca urmare a acțiunii componentului care favorizează fagocitozele. Fenomenele biochimice ale fagocitozei și bactericidiei sînt caracterizate prin intervenția enzimelor lisosomale și prin mecanisme energetice complexe expuse în capitolul de biochimia singelui. Din mastocit se liberează histamină, serotonină, bradikinină, compuși adenilici și polipeptide, cu rol în fenomenele vasculare și în condiționarea durerii locale. În faza tîrzie a inflamației crește rezistența specifică a organismului prin apariția de anticorpi specifici.

## Cap. XXI. NOȚIUNI DE NUTRIȚIE

### XXI.1. GENERALITĂȚI

Nutriția este o disciplină științifică, specială care studiază bazele biochimice și fiziologice ale alimentației.

Viața oricărei ființe presupune o cheltuială continuă de energie și, totodată, o permanentă degradare a constituenților organismului. Atât nevoile de energie cât și cele corespunzătoare reînnoirii constituenților tisulari sînt împlinite de alimentație. Însă, pentru ca să poată răspunde acestor nevoi, alimentele trebuie să aibă compoziții chimice adecvate și să fie consumate în cantități suficiente. În decursul timpului, nutriția și-a propus și a reușit să stabilească grupul complet de alimente necesare rației zilnice a omului. Mai mult chiar, la majoritatea alimentelor s-a putut fixa și cantitatea optimă din fiecare precum și asocierile lor cele mai potrivite pentru împlinirea nevoilor organismului. Pe de altă parte, s-a determinat modul în care variază necesarul alimentar al omului sănătos pe tot parcursul vieții iar, în ultimul timp, nutriționiștii au reușit să înțeleagă în ce fel unii factori alimentari afectează și sînt afectați de diverse boli sau tratamente medicale. Toate aceste obiective la care a ajuns să răspundă nutriția sînt expuse — pe scurt — în cele ce urmează.

O primă problemă care va fi studiată în acest capitol este cea a necesarului nutritiv al omului ținînd seama de cheltuielile energetice depuse în diverse condiții fiziologice.

A doua problemă importantă și dezvoltată în capitolul de față este cea a principiilor nutritive din constituția hranei.

O a treia problemă — care va fi expusă în ultima parte a capitolului — va privi datele referitoare la constituția principalelor produse alimentare.

În încheierea acestui capitol se vor face unele considerații cu privire la modul în care se poate asigura sănătatea prin nutriție.

### XXI.2. NECESARUL NUTRITIV

Necesarul nutritiv al unui organism corespunde nevoilor lui energetice, iar acestea sînt determinate de următorii factori: biosinteza constituenților specifici ai organismului, menținerea temperaturii corpului și efectuarea de travalii mecanice (activitatea musculară). Într-adevăr, organismul trebuie



să dispună în permanență de energie pentru împlinirea cerințelor anabolismului. Această necesitate este mai accentuată în perioada de creștere și scade pe măsură ce el înaintază în vîrstă (deoarece scade și ritmul de sinteză a constituenților tisulari). Pe de altă parte, organismul consumă energie pentru ca să poată îndeplini o serie de activități fiziologice care se desfășoară în cuprinsul său (respirație, circulație sanguină, menținerea tonusului muscular, contracție intestinală) și activitățile pe care le desfășoară în mediul exterior. În sfîrșit, cînd temperatura mediului este scăzută, organismul trebuie să cheltuiască energie pentru a-și menține temperatura, producînd căldura necesară acoperirii pierderilor termice.

## XXI.2.1. CHELTUIALA DE ENERGIE

În principiu, necesarul energetic al unui organism aflat în stare de întreținere este egal cu cheltuiala lui energetică. Se spune că un organism este în „stare de întreținere” atunci cînd procesele anabolice sînt echilibrate perfect cu cele catabolice, așa încît constituenții organismului respectiv își mențin același nivel. Datorită egalității dintre necesarul energetic și cheltuiala energetică, stabilirea necesarului se reduce, într-o primă aproximație, la stabilirea cheltuielii.

Pentru determinarea cheltuielii de energie a organismului în decursul timpului, s-au folosit două feluri de metode calorimetrice (metoda directă și metoda indirectă), foarte precise dar laborioase și utilizînd aparaturi complicate. Cu toate acestea, cele două tipuri de metode au condus la obținerea unor rezultate foarte utile:

1) Energia cheltuită de organism (sub formă de căldură eliberată în mediu, lucru efectuat, produse de excreție) este echivalentă cu valoarea energetică a hranei consumate.

2) În cazul subiectului aflat în repaus, aproape toată energia procurată prin hrană se cheltuiește sub formă de căldură eliberată în mediu.

3) Energia cheltuită este direct proporțională cu consumul de oxigen: pentru fiecare 1 l oxigen consumat se cheltuiesc 4,83 Kcal.

Acest ultim rezultat face posibilă calcularea indirectă a cheltuielii de energie prin măsurarea cantității de oxigen consumat în cazul desfășurării diverselor tipuri de activități. Asemenea măsurători au demonstrat că pentru fiecare individ cheltuiala de energie depinde de trei factori: ritmul metabolismului bazal, efectele termogenetice și nivelul activității fizice (musculare) depuse.

### XXI.2.1.1. Metabolismul bazal

Determinările cheltuielii energetice (corespunzătoare necesarului energetic și exprimată prin consum de oxigen) au arătat că în stare de repaus și echilibru termic, cheltuiala depinde de caracterele somatice ale omului. De fapt,

În aceste condiții, cheltuiala energetică este de circa 1 Kcal/kg/oră. Această cheltuială energetică, ireductibilă în condiții fiziologice, este numită *metabolism bazal*. Metabolismul bazal a fost exprimat și în funcție de suprafața corporală. În acest caz, el corespunde unei cheltuieli energetice de 1 000 Kcal/24 ore/1 m<sup>2</sup> suprafață corporală.

Numele de „metabolism bazal” este justificat de faptul că el corespunde cheltuielii energetice necesară menținerii unor activități fiziologice *bazale*: respirație, ritm cardiac, funcție renală, echilibru osmotic, activitate cerebrală, temperatura corpului.

La persoanele de același sex și aceeași vîrstă, valorile metabolismului bazal sînt constante. Pentru indivizii de aceeași vîrstă ele variază cu sexul, fiind totdeauna mai mari la bărbați iar pentru persoane de același sex, valorile metabolismului bazal variază cu vîrsta, fiind mai mari la tineri și mai scăzute la bătrîni.

În afară de variațiile în funcție de vîrstă și sex, întîlnite în condiții fiziologice, metabolismul bazal prezintă variații importante în unele afecțiuni, mai ales în cazuri de tulburări endocrine. Spre exemplu, în hipertiroidism el este mult crescut, iar în hipotiroidism este redus. De asemenea, administrarea unor medicamente determină variații ale metabolismului bazal, astfel, metabolismul bazal crește sub influența medicamentelor stimulative ale sistemului nervos.

#### XXI.2.1.2. Efectele termogenetice

Metabolismul bazal nu reprezintă decît o parte din cheltuiala energetică a individului. Pentru cunoașterea cheltuielii energetice totale trebuie ca la metabolismul bazal să se adauge cheltuiala energetică ce corespunde activității musculare iar, în unele condiții de mediu, trebuie luată în considerare și o cheltuială energetică, fie de *termogeneză*, fie de *termoliză*. Prin cheltuială de termogeneză se înțelege cheltuiala de energie impusă organismului de necesitatea păstrării temperaturii proprii atunci cînd temperatura mediului este prea scăzută și provoacă o pierdere termică excesivă. Într-adevăr, în această situație organismul trebuie să-și intensifice metabolismul principiilor imediate astfel încît să compenseze pierderea termică excesivă. Pe de altă parte, organismul este pus uneori în situația să se opună unei creșteri a propriei lui temperaturi determinată de o temperatură prea ridicată a mediului. În asemenea caz, organismul respectiv transpiră astfel încît evaporarea transpirației să determine scăderea temperaturii corpului („termoliza”).

#### XXI.2.1.3. Cheltuiala energetică determinată de activitatea musculară

Această cheltuială variază cu intensitatea activității depuse: cu cît efortul este mai mare, cu atît și cheltuiala energetică este mai crescută peste cea corespunzătoare metabolismului bazal. În tabelul XXI.1 sînt prezentate cheltuielile energetice în funcție de unele categorii de activități depuse.



## Cheltuieli energetice corespunzătoare diverselor tipuri de activități fizice

Natura activității depuse	Cheltuiela energetică Kcal/min.
Activitate sedentară (muncă intelectuală)	<2,5
Activitate musculară ușoară (munca de: croitor, tipograf, bucătar)	2,5—4,0
Activitate musculară medie (muncă de grădinar, laborant)	5—7,4
Activitate musculară intensă (muncă de tâmplar, spărgător de lemne)	7,5—9,9
Activitate musculară foarte intensă (muncă de pietrar, încărcător cu lopata)	>10
Înot lent	11,1
Înot rapid	14,2

În legătură cu energia cheltuită de organism în timpul efortului, trebuie precizat faptul că numai o parte din ea se transformă în lucru mecanic deoarece randamentul activității musculare este relativ redus (cca 30%).

## XXI.2.1.4. Necesarul energetic

După cum s-a mai menționat, la un organism sănătos aflat în stare de întreținere, necesarul energetic, procurat de hrană, echilibrează perfect cheltuiala lui totală de energie. Ori de câte ori aportul depășește cheltuiala, greutatea corpului crește; organismul se îngrașă. Într-adevăr, calculele au dovedit că la un potențial energetic de aprox. 3 500 Kcal corespunde o cantitate de 0,45 kg grăsime corporală. Invers, când necesarul energetic este inferior cheltuielii depuse organismul slăbește. Situațiile extreme în aceste două direcții sînt: obezitatea și respectiv, malnutriția.

În tabelul XXI.2 sînt prezentate valorile medii (și extreme) ale necesarului energetic pentru copii și adulți în cazul desfășurării unor activități fizice ușoare.

Necesarul energetic variază cu: caracterele somatice imediate (greutate, înălțime), vîrsta, activitatea fizică desfășurată, condițiile de climă și starea de sănătate. Într-adevăr, studiile efectuate pe pacienți spitalizați au dovedit că stresul catabolic sever, caracteristic unor boli, determină creșterea cu mai mult de 100% a cheltuielii normale de energie. În asemenea cazuri se produce și un dezechilibru azotat foarte marcat. Compensarea lor imediată se realizează prin mărirea substanțială a necesarului energetic, adică prin suplimente de hrană adecvate. Situații similare de mărirea necesarului energetic prin suplimente de hrană se întîlnesc și în condiții de sarcină sau alăptare, când nevoile sînt crescute cu 300—500 Kcal/zi.

În cazul copiilor de diferite vîrste (copii mici, aflați la pubertate, adolescenți) nevoile energetice sînt determinate nu numai de compensarea meta-

bolismului bazal și a cheltuielilor prin efort fizic ci într-o măsură considerabilă și de creștere (dezvoltare). Bineînțeles, și în aceste condiții, creșterea nevoilor energetice se asigură prin suplimente alimentare corespunzătoare.

Tabelul XXI.2

Necesarul energetic al copiilor și adulților în funcție de vîrstă, greutate și înălțime

Categorie	Vîrstă (ani)	Greutatea (kg)	Înălțimea (cm)	Necesarul energetic (Kcal)	
				Valori	
				Medii	Limite
Copii mici	0 — 0,5	6	60	kg × 115	(95 — 145)
	0,5 — 1	9	71	kg × 105	(80 — 135)
Copii	1 — 3	13	90	1 300	(900 — 1 800)
	4 — 6	20	112	1 700	(1 300 — 2 300)
	7 — 10	28	132	2 400	(1 650 — 3 300)
Bărbați	11 — 14	45	157	2 700	(2 000 — 3 700)
	15 — 18	66	176	2 800	(2 100 — 3 900)
	19 — 22	70	177	2 900	(2 500 — 3 300)
	23 — 50	70	178	2 700	(2 300 — 3 100)
	51 — 75	70	178	2 400	(2 000 — 2 800)
	76 +	70	178	2 050	(1 650 — 2 450)
Femei	11 — 14	46	157	2 200	(1 500 — 3 000)
	15 — 18	55	163	2 100	(1 200 — 3 000)
	19 — 22	55	163	2 100	(1 700 — 2 500)
	23 — 50	55	163	2 000	(1 600 — 2 400)
	51 — 75	55	163	1 800	(1 400 — 2 200)
	76 +	55	163	1 600	(1 200 — 2 000)

## XXI.2.2. COMPOZIȚIA ȘI ENERGIA RAȚIEI ALIMENTARE

Din timpuri foarte vechi, experiența umană a condus la stabilirea celei mai potrivite compoziții a hranei pentru asigurarea completă a necesarului nutritiv. Bineînțeles, această compoziție optimă nu poate fi universală și invariabilă în toate zonele geografice, ea depinzînd de condițiile climatice în care se dezvoltă și trăiește omul; este în raport cu conținutul în substanțe nutritive ale solului pe care cresc vegetalele utilizate ca surse alimentare; este în funcție de posibilitățile de păstrare și depozitare a alimentelor precum și de obiceiurile tradiționale de prelucrare culinară. (Acești ultimi doi factori contribuie, de multe ori, la scăderea valorii nutritive a hranei). Totuși, indiferent de natura și acțiunea factorilor de variabilitate, experiența a dovedit că o compoziție optimă de hrană se asigură numai prin includerea, în proporții bine echilibrate, a tuturor principiilor nutritive. (Ele sînt caracterizate, pe larg, în subcapitolul următor).



În categoria principiilor nutritive, componente permanente ale hranei, un loc central îl ocupă grupul glucidelor, lipidelor și proteinelor deoarece prezența acestora este absolut obligatorie în orice rație alimentară completă. De aceea, ele sînt numite și „principii imediate”, fiind utilizate de organism în primul rînd. Dintre ele, glucidele și lipidele participă, în special, la procurarea de energie, iar proteinele sînt folosite pentru rafacerea tisulară. Cu toate acestea, așa cum au dovedit determinările respective, proteinele au și ele o valoare energetică proprie de care se ține seama la calcularea cantității totale de energie a rației.

Pentru determinarea energiei totale disponibile în hrană se ia în considerare totdeauna energia eliberată prin oxidarea celor trei tipuri de principii nutritive imediate (glucide, lipide, proteine) aflate în rația alimentară. Această energie se măsoară prin metode calorimetrice.

Determinările făcute prin arderea fiecărui fel de principiu imediat în bomba calorimetrică au dus la concluzia că arderea unui gram de glucide liberează 4,1 Kcal, a unui gram de lipide 9,3 Kcal și a unui gram de proteine 5,4 Kcal. Aceste valori reprezintă *căldurile de combustie* ale fiecărui tip de principiu nutritiv imediat.

Ținînd seama de faptul că în organism glucidele și lipidele sînt oxidate complet (pînă la bioxid de carbon și apă), ca și în bomba calorimetrică, se poate conchide că, pentru aceste categorii de principii imediate, valorile căldurilor de combustie sînt identice cu valorile energetice efective ale substanțelor în organism. Proteinele, însă, nu sînt oxidate complet în organism pînă la dioxid de carbon, apă și azot, ca în bomba calorimetrică. Cea mai mare parte din carbonul și hidrogenul pe care-l cuprind se transformă, prin oxidare, în dioxid de carbon și apă, iar azotul lor, precum și cîte o parte din carbon și hidrogen se elimină sub formă de produși azotați prin urină, în special, sub formă de uree. În aceste condiții, valoarea energetică efectivă a proteinelor în organism nu este egală cu căldura lor de combustie în bomba calorimetrică ci este mai mică. Scăzînd însă din căldura de combustie a proteinelor, în bombă aceea a ureii și a celorlalți compuși azotați eliminați prin urină se obține valoarea energetică efectivă a proteinelor în organism. Această valoare este de 4,1 Kcal pentru 1 g proteine (în loc de 5,4 Kcal/g, valoarea calorifică sau căldura de combustie a proteinelor în bomba calorimetrică).

Căldurile de combustie în calorimetru și energiile disponibile corespunzătoare pentru cele trei categorii de principii imediate sînt prezentate în tabelul XXI.3.

**Tabelul XXI.3**  
Căldurile de combustie și energiile disponibile în organism pentru cele trei categorii de principii nutritive imediate

Principiul nutritiv imediat	Căldura de combustie (în bomba calorimetrică) Kcal/g	Energia disponibilă (în organism) Kcal/g
Glucide	4,1	4,1
Lipide	9,3	9,3
Proteine	5,4	4,1

Cifrele consemnate în tabel arată că energia disponibilă, conținută în unitatea de masă pentru lipide este mai mult decât dublă față de cea corespunzătoare glucidelor sau proteinelor.

### XXI.3. PRINCIPIILE NUTRITIVE

Principiile nutritive sînt substanțele care trebuie să se găsească în rațiile alimentare pentru ca acestea să asigure dezvoltarea organismului, întreținerea și reproducerea lui în condiții normale. Deși organismul uman are nevoie toată viața de aceleași principii sau substanțe nutritive, cantitățile variază, de la individ la individ, în funcție de vîrstă, greutate, sex, condiții de climă, natura activității depuse și starea de sănătate.

Nutriția modernă recunoaște existența a nouă categorii de principii nutritive: glucidele, lipidele, proteinele, vitaminele, oligomineralele, macro-mineralele, fibrele alimentare, substanțele bioactive și apa. Substanțele chimice care intră în aceste categorii de principii nutritive sînt antrenate în funcții precise și utile organismului care le ingerează. Astfel, după cum s-a mai menționat, unele procură energie (și căldură), altele furnizează material de construcție pentru organism, ajutînd la creșterea sau la repararea țesuturilor degradate prin uzură, iar altele iau parte (direct sau indirect) la reglarea proceselor biochimice și fiziologice desfășurate în organism. Unele principii nutritive participă însă atît la refacerea țesuturilor, cît și la procurarea de energie. Pe de altă parte, deși fiecare categorie de principii nutritive își are funcțiile sale specifice și relații bine determinate cu organismul, nici una nu acționează independent. Așadar, pentru desfășurarea normală a proceselor din organism și menținerea stării lui de sănătate este necesar ca rația alimentară să cuprindă toate cele nouă categorii de principii nutritive, în cantități adecvate.

#### XXI.3.1. GLUCIDELE

Cea mai mare parte din hrana obișnuită a omului este constituită din glucide sau zaharuri. Prezența obligatorie a glucidelor în rația alimentară este justificată de faptul că ele sînt principii nutritive energizante prin excelență. Într-adevăr, așa cum s-a arătat la metabolismul glucidelor, degradarea lor în organism furnizează energie pentru toate funcțiile acestuia și, în mod special, pentru activitatea musculară.

Glucidele prezintă avantajul că pot fi ușor digerate și absorbite; de asemenea ele ajută la metabolizarea altor categorii de principii nutritive, în special a lipidelor. Deoarece, în organism, porțiunea glicerolică a unor categorii de lipide (trigliceride) și catenele hidrocarbonate ale unor aminoacizi (glucoformatori) se pot transforma în glucoză, glucidele s-ar părea că nu sînt absolut



esențiale în rația alimentară. Totuși, în absența lor se instalează starea de „cetoză“ (vezi metabolismul glucidelor și al lipidelor) și, ca urmare, apar alte tulburări metabolice grave : pierderi semnificative de apă și de anumiți electroliti, degradări excesive de proteine musculare etc. Pentru prevenirea acestor efecte defavorabile se recomandă ca rația zilnică să includă un aport de 50—100 g glucide.

Din punct de vedere calitativ, pot fi utilizate pentru hrană oricare din glucidele care eliberează, în urma digestiei, monozaharidele : glucoză, galactoză, fructoză, manoză. De fapt, în rația obișnuită a omului intră următoarele glucide : amidonul (polizaharid din vegetale), zaharoza (dizaharid din sfecla de zahăr sau trestia de zahăr), lactoza (dizaharid din lapte), glucoza și fructoza (monozaharide din fructe). În organism, toate aceste glucide ajung să se transforme în glucoză.

În general, este preferabil ca glucidele să fie consumate „în forme naturale“ datorită faptului că sursele naturale cuprind și alte substanțe necesare organismului (vitaminele B, E și substanțe minerale în cereale ; vitaminele B, C și substanțe minerale în cartofi ; vitamina C și substanțe minerale în fructe). Însă, în această privință, un neajuns îl constituie faptul că multe principii nutritive din alimentele care conțin și glucide se îndepărtează sau sînt distruse în timpul prelucrării surselor naturale. Spre exemplu, cînd bobul de grâu este transformat în făină albă, se îndepărtează stratul de la suprafața externă a bobului (cortexul) și a germenului de grâu.

Sursele vegetale care procură glucidele hranei obișnuite a omului cuprind însă și celuloză. Aceasta, deși face parte din categoria glucidelor, nu este digerată în tractul digestiv uman. Ea este totuși valoroasă din punct de vedere dietetic deoarece stimulează peristaltismul intestinal și ajută la formarea și eliminarea fecalelor. (A se vedea, mai departe, fibrele alimentare).

Alte glucide care intră în constituția hranei obișnuite a omului sînt pentozele (monozaharide) și polizaharidele formate din pentoze. Această categorie de glucide nu are valoare nutritivă, fiind absorbite și excretate ca atare. Unele pentoze sînt transformate în organism, după cum s-a arătat la metabolismul glucidelor, în glucoză, participînd astfel în mod indirect la rolurile sale.

## XXI.3.2. LIPIDELE

Lipidele sau grăsimile reprezintă categoria de principii nutritive care constituie o componentă importantă a rației alimentare. Necesitatea prezenței lipidelor în rație rezultă din următoarele însușiri specifice pe care acestea le prezintă :

(1) — au cea mai „concentrată“ valoare energetică din rație. Într-adevăr, așa cum s-a arătat în subcapitolul precedent, lipidele eliberează în organism 9,3 kcal/g, mai mult decît dublul energiei eliberate de glucide sau proteine (cîte 4,1 kcal/g) ;

(2) — se pot consuma în stare uscată (ca atare) spre deosebire de proteine și polizaharide care nu au gust în stare uscată și nu pot fi consumate decît după o prealabilă preparare (de obicei, cu apă) ;

(3) — sînt solvenți pentru vitaminele liposolubile (A, D, E, K) și pentru caroteni (provitamine A), substanțe aflate și ele în rația alimentară ;

(4) — înlesnesc absorbția vitaminei D și, prin aceasta, a calciului, ajungînd astfel, în mod indirect, la utilizarea calciului de către organism (în special, la fixarea lui în oase și dinți).

(5) — contribuie, după metabolizare în organism, la formarea „lipidelor de depozit” care ajută la protejarea organelor interne (rinichi, inimă, ficat) și la păstrarea temperaturii constante a corpului.

(6) — ajută la prelungirea procesului de digestie, încetinind secrețiile stomacale ce conțin acid clorhidric. Datorită acestui fapt, apare senzația de sațietate și de îngreunare după o masă bogată în grăsimi.

În ceea ce privește însușirea lipidelor de a furniza energie organismului, se remarcă diferențe între cele de origine animală și cele de origine vegetală. În general, lipidele animale au o valoare biologică superioară celor de origine vegetală deoarece ele conțin mai multe vitamine liposolubile, în special vitaminele A și D. Lipidele de origine animală conțin o proporție semnificativ mai mare de acizi grași saturați, iar colesterolul se află numai în această categorie de lipide. Diferențele de compoziție dintre lipidele animale și vegetale pot avea implicații importante în starea de sănătate. Într-adevăr, la populațiile care consumă multe grăsimi animale incidența obezității, cancerului de colon și bolilor de inimă (coronariene) este foarte mare. De altfel, se știe că împreună cu fumatul și hipertensiunea, nivelul crescut al colesterolului seric, ca urmare a hrănirii cu rații bogate în colesterol (grăsimi animale), reprezintă un factor de risc important în instalarea și progresarea procesului aterosclerotic.

Deși capacitatea de dizolvare a vitaminelor liposolubile de către lipidele de origine vegetală este mai redusă, ele au o valoare biologică apreciabilă datorită faptului că pot cuprinde acizi grași esențiali. După cum s-a mai menționat, principalii acizi grași esențiali sînt : acidul linoleic, acidul linolenic și acidul arahidonic. Ei intră, în proporții diferite și utile, în constituția tuturor uleiurilor comestibile, extrase din semințele anumitor specii vegetale. Pînă în prezent, nu există recomandări speciale cu privire la necesarul de acizi grași esențiali. S-a constatat însă că într-o rație alimentară care procură 2 000 — 3 000 kcal/zi, 5 g acid linoleic ajung să îndeplinească nevoile organismului. De altfel, această cantitate este mult inferioară celei de 23 g/zi, apreciată ca disponibilă în hrana obișnuită. Datorită acestei disponibilități se explică faptul că nu se întâlnește deficiența de acizi grași esențiali. Acidul linolenic și alți omologi ai lui (cu trei duble legături), precum și acidul arahidonic (cu patru duble legături) sînt, indirect sau direct, precursori ai prostaglandinelor sintetizate în organism. Printre alte însușiri, acestea din urmă au rolul de a împiedica agregarea plachetară. Relativ recent, s-a emis părerea că incidența redusă a bolilor de inimă coronariene la eschimoșii din Groenlanda trebuie atribuită prezenței acizilor grași esențiali, cu trei duble legături, care intră în constituția grăsimilor somonilor și scrumbiilor, hrana de bază a acestei populații.

Lipidele sînt consumate în cantitate mai mare în regiunile puțin luminate de soare. Populațiile care trăiesc în climă temperată nu pot consuma cantități excesive de lipide, fără consecințe dăunătoare pentru organism. Într-adevăr, cînd consumul de lipide este foarte mare se diminuează, în mod apreciabil, cel de glucide. Acest fapt atrage, după cum s-a mai spus, instalarea stării de cetoză. Este totuși de remarcat că predispoziția la cetoză pare a fi, în mare măsură, o problemă de adaptare. Astfel, s-a constatat că eschimoșii, trăind



într-o regiune unde nu se produc alimente cu conținut glucidic, au câștigat toleranță mare pentru lipide. Și obezii au o mare toleranță pentru lipide. Pe de altă parte, există unele populații care datorită resurselor locale insuficiente s-au obișnuit să consume în rație cantități foarte mici de grăsimi. Deși în asemenea împrejurări efectele dăunătoare nu sînt imediat vizibile, cu timpul se manifestă și deficiența de vitamine liposolubile, ca urmare a deficienței de lipide în rație. În aceste cazuri apar diverse modificări cutanate, eczeme iar în stări de deficiență extremă se poate ajunge chiar la întârzieri de creștere și dezvoltare.

### XXI.3.3. PROTEINELE

Proteinele sînt principii nutritive cu rol plastic, în sensul că sînt necesare pentru creșterea organismului tinăr și menținerea (întreținerea) celui adult. În mod normal, în organism are loc o reînnoire proteică, zilnică, în proporție de 1—2% din totalul proteinelor corpului.

Importanța și necesitatea prezenței proteinelor în rații, pentru menținerea bunei funcționări a celulelor din organism și pentru asigurarea refacerii țesuturilor uzate, rezultă din cercetarea următoarei situații: se știe că un organism adult elimină zilnic produse azotate prin urină, chiar atunci cînd el se află în stare de inaniție. Deoarece în inaniție produsele azotate eliminate provin din degradarea proteinelor tisulare proprii organismului, se înțelege că este neapărat nevoie ca acesta să primească, odată cu rația, proteine care să le înlocuiască pe cele pierdute. Numai astfel organismul se poate menține în stare de „echilibru azotat“. Se spune că un organism se află în echilibru azotat cînd cheltuiala de substanțe azotate, în special de proteine, este acoperită de un aport corespunzător de proteine în rația alimentară. Pe de altă parte, necesitatea proteinelor în rație pentru asigurarea sintezei de proteine noi în țesuturi este deosebit de evidentă în unele stări fiziologice speciale, spre exemplu, în gestație și lactație. Într-adevăr, femeile gravide au nevoie de o alimentație mai bogată în proteine pentru construirea substanțelor proteice noi, necesare dezvoltării uterului și fătului. De asemenea, femeile care alăptează au și ele nevoie de un regim mai bogat în proteine pentru ca acestea să servească în organism la formarea proteinelor laptei.

După cum s-a menționat în capitolul privind proteinele, pentru formarea de proteine proprii organismul are nevoie de 20—22 aminoacizi. Cu excepția a 8 dintre ei, numiți aminoacizi esențiali, toți ceilalți aminoacizi pot fi sintetizați și în organismul omului. Cei 8 aminoacizi esențiali figurează și în tabelul XXI.4 în care sînt menționate cantitățile apreciate ca necesare copiilor și adulților.

Histidina s-a dovedit că este un aminoacid esențial pentru copii mici (cu necesar zilnic de 33 mg/kg corp) dar nu s-a stabilit necesarul ei pentru copii mai mari și adulți. De asemenea, pînă de curînd, arginina a fost și ea considerată aminoacid esențial necesar dezvoltării normale a copilului.

## Necesarul zilnic\* de aminoacizi esențiali în funcție de vîrstă

Aminoacidul	Copil mic *(1 - 6 luni)	Copil (10 - 12 ani)	Adult	Conținutul în aminoacizi esențiali ai proteinelor de calitate superioară (mg/g proteină)
Izoleucină	83	28	12	42
Leucină	135	42	16	70
Lizină	99	44	12	51
Totalul de aminoacizi cu sulf (inclusiv metionina)	49	22	10	26
Totalul de aminoacizi aroma- tiți (inclusiv fenilalanina)	141	22	16	73
Treonina	68	28	8	35
Triptofanul	21	4	3	11
Valina	92	25	14	48

\* În mg/kg greutate corp

Majoritatea proteinelor care intră în constituția hranei cuprind toți aminoacizii esențiali în proporții diferite. Cu privire la aceste proporții sînt necesare următoarele precizări: (1) cantitățile de aminoacizi esențiali din rație și proporțiile dintre ei trebuie să fie foarte apropiate de necesarul organismului în acești aminoacizi; (2) dacă un aminoacid esențial se află într-o cantitate foarte mică sau lipsește din rația proteică, biosinteza proteinelor în organism scade la un nivel foarte redus sau chiar încetează; (3) în anumite alimente unul sau mai mulți aminoacizi esențiali se pot găsi în cantități foarte mici în raport cu alții. Acest fapt modifică mult proporția de aminoacizi esențiali necesari organismului; (4) aminoacidul esențial din rație care se află în cantitate foarte mică, sau este absent, se numește aminoacid limitant. În organism, după asimilarea proteinei respective, el se află în cea mai redusă cantitate din necesarul zilnic de aminoacizi; (5) aminoacidul esențial limitant este factorul determinant pentru stabilirea cantității și calității proteinei utilizate de organism.

Ținînd seama de precizările menționate, se înțelege că nu toate proteinele din rație sînt în măsură să procure toți aminoacizii esențiali și să acopere nevoile azotate ale organismului, adică să se transforme în proteine proprii lui. Această însușire se numește *valoare biologică* sau *metabolică* a proteinelor.

Proteinele complexe (cu număr mare și variat de aminoacizi, inclusiv aminoacizi esențiali) au valori biologice mari și se numesc *proteine complete*. Cele care cuprind un număr limitat de aminoacizi esențiali și neesențiali nu sînt în măsură să procure organismului material necesar pentru refacerea țesuturilor proprii; ele au valori biologice mici și se numesc *proteine incomplete*. În general, proteinele de origine animală (din carne, lapte și produse lactate) sînt proteine complete, în timp ce proteinele de origine vegetală (din legume și fructe) sînt proteine incomplete. Acest fapt relevă superioritatea proteinelor de origine animală față de cele de origine vegetală. De aceea, în alcătuirea unei rații alimentare adecvate trebuie să se asocieze cu grijă alimentele ce conțin proteine sărace în aminoacizi cu cele care cuprind aminoacizii respectivi în cantități suficiente. În cazuri contrare, prin administrarea mai îndelungată



de rații neadecvate, din acest punct de vedere, apar deficiențe proteice cu manifestări multiple, variate și grave. Printre ele se observă frecvent scăderea greutateii și încetinirea dezvoltării țesuturilor, scăderea tonusului muscular, degradarea pielii, părului, unghiilor, scăderea rezistenței la infecții, întârzieri în vindecarea rănilor și chiar instalarea depresiei nervoase (sub diferite aspecte).

Pe lângă prezența anumitor aminoacizi (în special cei esențiali) în constituția proteinelor din rație, un alt factor care afectează utilizarea lor este raportul dintre potențialul energetic al rației și proteinele pe care ea le conține. Într-adevăr, echilibrul azotat necesită atât un aport adecvat de proteine, cât și unul de componente energetice. Deficiența oricăreia din aceste două categorii de componente are ca rezultat un echilibru azotat negativ, caracterizat prin excreții azotate mai mari decât reținerile. În schimb, când aportul energetic al rației este mare și suficient pentru acoperirea nevoilor organismului, echilibrul azotat este atins ușor cu un aport proteic relativ redus (deoarece catenele hidrocarbonate ale aminoacizilor respectivi nu sînt solicitate și ele pentru degradări cu producere de energie). Cercetările au demonstrat că pentru menținerea echilibrului azotat, aportul energetic al rației trebuie să fie egal cu  $1\frac{1}{2} \times$  cheltuiala de energie corespunzătoare metabolismului bazal. În aceste condiții, rația cea mai potrivită (pentru menținerea echilibrului azotat) este aceea care procură proteine în proporție de 12—15% din aportul energetic. Într-adevăr, rațiile prea bogate în proteine nu conferă avantaje speciale ci, mai degrabă, produc neajunsuri. Astfel, la copii prematuri administrarea rațiilor cu conținut proteic prea mare poate determina efecte toxice. Pe de altă parte, rațiile foarte bogate în proteine ale adulților produc tulburări ale funcțiilor renale.

Aportul insuficient al hranei (deci cantități insuficiente de proteine și energetice) determină *malnutriția proteino-energetică*. Ea este combătută prin creșterea cantitativă și calitativă atât a componentelor proteice, cât și a celor energetice din rație. Malnutriția proteico-energetică se poate declanșa și în caz de malabsorbție, intervenții chirurgicale pe tractul digestiv sau în diverse boli grave. În asemenea situații recuperările necesită administrarea de suplimente nutriționale (proteice și energetice) sub control riguros și supraveghere medicală.

#### XXI.3.4. VITAMINELE

După cum s-a arătat în capitolul consacrat studiului vitaminelor, în funcție de solubilitatea lor, în apă sau grăsimi, există două categorii de vitamine: hidrosolubile și liposolubile. Indiferent de categoria căreia îi aparține, fiecare vitamină se află în cantități variate în diverse alimente. De asemenea, fiecare vitamină, indiferent de sursa alimentară din care provine, este necesară omului pentru creștere și menținerea sănătății organismului.

Vitaminele, deși nu reprezintă materiale structurale și nu au valoare energetică, sînt importante pentru organism datorită rolurilor funcționale pe care le împlinesc. Într-adevăr, așa cum s-a arătat la studiul vitaminelor, majo-

ritatea lor sînt constituenți enzimatici (coenzime). În această calitate, vitaminele participă aproape în toate reacțiile metabolice, atît la degradări, cît și la constituire de structuri tisulare.

S-a arătat că, pentru împlinirea funcțiilor biologice organismul omului are nevoie zilnic de cantități foarte mici de vitamine (cîteva mg sau chiar micrograme) iar rația alimentară trebuie să le procure regulat și în măsura necesară. Necesarul de vitamine variază cu vîrsta, sexul, starea fiziologică, clima și natura activității depuse. Cu toate aceste cauze multiple de variație a necesarului vitaminic, se indică totuși unele niveluri absolut indispensabile bunei funcționări a organismului. Aceste niveluri sînt raportate totdeauna la persoane sănătoase care depun o muncă ușoară și în climat temperat. În capitolul consacrat stadiului vitaminelor s-a specificat, pentru fiecare, necesarul respectiv. Este de remarcă că acest necesar vitaminic, adus de rația alimentară zilnică, trebuie să fie riguros respectat, în caz contrar, atît depășirile, cît și reducerile aportului vitaminic atrag tulburări metabolice și dezechilibre periculoase pentru starea de sănătate a organismului. Excesul vitaminic se acumulează în corp provocînd stări grave de toxicitate. Asemenea situații au fost puse în evidență în cazul supradozelor de vitamină A, vitamină D și vitamină E. În cazul vitaminei liposolubile K se pot produce stări de toxicitate cînd se folosesc tratamente îndelungate cu cantități mari de medicamente ce conțin vitamina K (dispersată în apă). În general, cu excepția unor indicații terapeutice exprese, administrarea supradozelor de vitamine este periculoasă și trebuie evitată. Pe de altă parte, deficiența sistematică și prelungită de vitamine în rația alimentară declanșează anumite avitaminoze. Exemple de asemenea situații sînt prezentate în tabelul XXI.5.

Tabelul XXI.5

**Defecte metabolice determinate de lipsa unor vitamine hidrosolubile cu rol coenzimatic**

Vitamina	Boala	Defectul biochimic*
Biotina	Acidemie propionică	Propiloi-CoA carboxilaza
Vitamina B <sub>12</sub>	Acidurie metilmalonică	Formarea de cobamid-coenzimă
Acid folic	Malabsorbția folatului	Transportul acidului folic
Niacina	Boala Hartnup	Transportul triptofanului
Piridoxina	Cistationurie : Homocistinurie	Cistationinaza : cistationinsintetaza
Tiamina	Hiperadalinemie : acidoză lactică	Piruvat decarboxilaza : piruvat carboxilaza hepatică

\* Defectele enzimatice pot fi corectate prin administrarea unor doze mari din vitaminele respective

Deficiențele de vitamine liposolubile (avitaminozele respective) se întîlnesc, în special, la copii mici care n-au depozite adecvate în organism. La adulți, deficiențele de vitamine liposolubile sînt rare. Cînd se întîlnesc sînt aproape totdeauna datorate malabsorbției, obstrucției căilor biliare sau altor cauze care afectează metabolismul lipidelor.



Mineralele sînt substanțe nutritive care se află în rația alimentară și în organism, atît sub formă de compuși anorganici cît și organici. În general, se consideră că pentru nutriția omului sănătos sînt absolut necesare 17 substanțe minerale.

Deși substanțele minerale din organism reprezintă numai 4—5% din greutatea corpului, ele sînt indispensabile pentru menținerea stării de sănătate.

În organism substanțele minerale împlinesc atît roluri plastice, cît și funcționale. Ținînd seama de aceste roluri, se înțelege ușor necesitatea procurării regulate a mineralelor de către rația alimentară. O rație mixtă și variată cu alimente de origină animală și vegetală, procură și substanțe minerale în cantități adecvate.

În organism, unele minerale se găsesc în proporții relativ mari (macrominerale). Din această categorie fac parte substanțele minerale care cuprind elementele : calciu, clor, fosfor, potasiu, magneziu, sodiu și sulf. Cantitățile aflate în organism și necesarul de aceste elemente este apreciat în *miligrame* (a se vedea în capitolul consacrat studiului substanțelor minerale). Alte minerale se găsesc în cantități foarte mici, de ordinul *microgramelor*, dar sînt absolut necesare pentru desfășurarea, în bune condițiuni, a tuturor proceselor vitale. Aceste substanțe se numesc *oligominerale* iar elementele corespunzătoare, *oligoelemente*. Oligoelementele esențiale pentru organism sînt considerate : fierul, zincul, seleniul, manganul, cuprul, iodul, molibdenul, cobaltul, cromul și fluorul.

Trebuie subliniat faptul că mineralele se află în organism într-o strînsă și continuă interfuncționalitate. De aceea, intervenția unei substanțe minerale sau a unui element afectează (stimulînd sau inhibînd) funcționarea altor minerale. Acțiunile sinergice stimulative ale mineralelor se remarcă, în special, în stările de stres fizic sau emoțional. În asemenea cazuri, dacă ele se prelungește, aportul substanțelor minerale din rația alimentară trebuie să fie mărit.

Ca și în cazul avitaminozelor, bolile datorate deficienței de substanțe minerale pot fi tratate, pînă la un anumit stadiu de gravitate, prin administrarea mineralelor respective.

S-a constatat că persoanele cu aport energetic scăzut datorită dietei urmate, vîrstei sau stilului de viață sedentar, nu-și pot împlini nevoile de substanțe minerale. În asemenea cazuri survin sindroame mai mult sau mai puțin grave. Pe de altă parte, în ultima vreme, deficiențele minerale au fost asociate cu o mare varietate de boli care au însă mai mulți factori cauzali. Spre exemplu, boala de inimă coronariană a fost atribuită deficienței de oligoelemente. Bineînțeles, această atribuire nu poate constitui o cauză exclusivă căci, după cum se știe, există mai mulți factori care, împreună, trebuie considerați responsabili cauzali ai bolii. Oricum, pînă nu se vor elucida mai multe probleme privitoare la intervenția și necesarul nutritiv de oligoelemente, rămîne valabilă concepția actuală potrivit căreia nutriția minerală optimă a omului sănătos necesită consumul unei varietăți de alimente cu conținut mineral ridicat și complet.

## XXI.3.6. SUBSTANȚELE ALIMENTARE BIOACTIVE

Într-o rație alimentară obișnuită (completă) cea mai mare parte a aportului alimentar este de origine vegetală, legume, produse din cereale, fructe, în care predomină glucidele. Ele mai conțin însă și alte principii nutritive : proteine, lipide, vitamine, minerale, apă, fibre alimentare precum și substanțe alimentare bioactive.

Substanțele alimentare bioactive includ numeroase combinații chimice cu activitate biologică marcată și care fac parte din diferite categorii de compuși organici : alcooli, acizi, glicozizi, alcaloizi etc. În tabelul XXI.6 este prezentată o scurtă clasificare a unor categorii de substanțe alimentare bioactive, menționându-se pentru fiecare categorie, după caz, exemple, însușiri sau sursele vegetale care le cuprind și din care pot fi procurate.

Tabelul XXI.6

### Unele categorii de principii alimentare bioactive

1. Enzime vegetale
2. Fitohormoni (heteroauxina, hormon de creștere pentru plante)
3. Pigmenți vegetali (carotenoizi, flavonoide)
4. Glicozizi (glicozizii cardiotonici, amigdalina, solamina)
5. Alcaloizi (cofeina, teofilina, teobromina, nicotina, chinina)
6. Uleiuri eterice și rășini (mentă, portocale, mărar)
7. Acizi organici (din fructe și legume -- conferă gust acru)
8. Taninuri (imprimă gust astringent)
9. Substanțe antibiotice și fitoncide (ceapă, usturoi, hrean)

Substanțele alimentare bioactive se găsesc în cantități relativ mari în numeroase plante medicinale folosite curent în scopuri farmaceutice sub formă de ceaiuri (de mătase de porumb, cozi de cireșe, izmă, mușetel, sunătoare).

Cercetările moderne au arătat că substanțele alimentare bioactive influențează funcțiile unor organe interne în doze infinitezimale. Datorită efectelor multiple exercitate asupra ficatului, pancreasului, stomacului, intestinului, sistemului circulator, sistemului nervos, rinichiului, glandelor endocrine, prezența constantă în organism a principiilor bioactive este imperioasă. De aceea, rația zilnică trebuie să cuprindă alimente cât mai variate, asigurându-se astfel procurarea acestor substanțe atât de necesare.

Este de remarcat faptul că multă vreme semnificația nutrițională a substanțelor bioactive nu a fost sesizată. Aceasta se datorează faptului că atât creșterea, cât și dezvoltarea organismului nu sînt afectate de absența principiilor bioactive (așa cum sînt afectate de lipsa altor principii nutritive : proteine, glucide, lipide, vitamine, minerale). Pe de altă parte, în majoritatea alimentelor (vegetale) substanțele bioactive se găsesc în cantități foarte mici și de aceea nu s-au putut decela decît folosind tehnici fine și precise.



### XXI.3.7. FIBRELE ALIMENTARE

Ca și substanțele nutritive bioactive, fibrele alimentare sînt principii de natură vegetală, aflate în rația obișnuită (completă) a omului. În general, această categorie de substanțe include principiile energetice ale hranei, nedigerabile de către enzimele intestinale și neabsorbabile prin mucoasa intestinală. Cercetările au dovedit însă că în aceeași categorie a fibrelor alimentare pot fi cuprinse și substanțe de felul gumelor, gelurilor, mucilagiilor. Într-adevăr, deși acestea din urmă nu au o structură fibrilară ele prezintă o serie de proprietăți care justifică înglobarea în categoria fibrelor alimentare.

În decursul timpului, fibrele alimentare au fost clasificate după diverse criterii. Astfel, în 1979, ținîndu-se seama de rolul pe care-l împlinesc în planțele cărora aparțin, fibrele vegetale (și totodată alimentare) au fost grupate în trei categorii mari :

- fibre structurale (celuloza, lignina, unele hemiceluloze, pectine);
- gume și mucilagii;
- polizaharide de depozit.

Fibrele structurale intră în componența (structura) pereților celulari ai plantelor, gumele și mucilagiile au rol în reconstituirea regiunilor vegetale vătămate, iar polizaharidele de depozit reprezintă rezervele nutritive ale plantelor.

Din punct de vedere al comportării lor față de acizi și baze fibrele se împart în două grupe :

- fibre insolubile în acizi și baze (celuloza, lignina, unele hemiceluloze);
- fibre solubile în acizi și baze (pectine, unele hemiceluloze, gume, mucilagii, polizaharide de depozit).

Fibrele insolubile în acizi și baze se mai numesc „fibre brute”. Această grupă este restrînsă, cuprinzînd aproximativ numai jumătate din categoria fibrelor vegetale deoarece în cursul extracției (cu acizi sau cu baze) se îndepărtează aproape toți pentozanii (80 %) din hemiceluloză, 90 % din lignină și aproximativ un sfert (20—25 %) din celuloză.

Din punct de vedere al constituției lor chimice, fibrele vegetale se împart în următoarele categorii :

- Celuloza : polimer liniar al glucozei, format din cca 3.000 unități;
- Hemicelulozele : polimeri polizaharidici diferiți ; mai mult de 2.500, constituiți din pentoze și hexoze ;
- Pectinele : polimeri de acid galacturonic ;
- Lignina : polimer de fenil-propan ;
- Gumele, mucilagiile, polizaharidele de depozit : polizaharide foarte ramificate, nefibrilare, conținînd acid glicuronic, acid galacturonic, xiloză, arabinoză și manoză.
- Alte substanțe eterogene : acid fitic, steroli vegetali, săponine, taninuri.

După cum rezultă din această clasificare, este de remarcă că majoritatea fibrelor vegetale care intră în rația alimentară a omului sînt polimeri glucidici. Ultima categorie din clasificare nu cuprinde polimeri glucidici dar în intestin prezintă comportamente asemănătoare cu fibrele, de aceea au fost grupate împreună.

Trecind în revistă fiecare categorie de fibre din ultima clasificare considerăm că este util să se facă unele precizări cu privire la proprietățile lor mai importante.

*Celuloza* este insolubilă în apă și nescindată de către enzimele tubului digestiv al omului. Flora intestinală saprofită scindează, în unități structurale, circa 15% din fibrele celulozice. Cu toate acestea, produșii rezultați nu sînt absorbiți prin peretele intestinal.

*Hemicelulozele*, în intestin au capacitatea de a reține apa și de a fixa (lega) unii cationi. Flora bacteriană din intestin hidrolizează cea 85% din hemiceluloză dar, ca și în cazul celulozei, produșii rezultați nu sînt absorbiți în organismul omului.

*Pectinele* pot forma geluri datorită unei mari hidrofilii pe care o au și, la fel cu hemicelulozele, pot lega unii cationi sau acizi (acizii biliari din intestin). În intestinul gros, unele enzime aflate în flora saprofită scindează cea 95% din pectină dar acidul galacturonic rezultat nu este absorbit în organism.

*Lignina* este un copolimer aromatic, deci nu este de natură glucidică. Se consideră că reprezintă componentul vegetal cel mai puțin digerabil. În alimente ea intră în proporții diferite; se află în cantitate mai mare în cereale și mai puțină în legume și fructe. În intestin, lignina fixează sărurile biliare și alte substanțe organice, ceea ce poate determina scăderea absorbției intestinale pentru alte principii nutritive.

După cum s-a mai menționat, *gumele, mucilagiiile, gelurile și polizaharidele de depozit* nu au structură fibrilară (nu intră în constituția peretelui celular al plantelor). În intestin, ele au o capacitate redusă de fixare a cationilor dar, datorită absorbției apei, formează geluri care leagă acizii biliari sau alte substanțe organice.

Din *substanțele vegetale nedigerabile* fac parte acidul fitic și sărurile lui (fitații) care au capacitatea de a lega cationi. Așa pot fi explicate unele pierderi digestive de fier sau zinc.

Din examinarea principalelor caractere ale categoriilor de fibre alimentare, cuprinse în ultima clasificare, se pot desprinde rolurile fiziologice, deosebit de favorabile, pe care le implinesc în intestin: (1) absorbția apei (în special, prin reținere în ochiurile rețelei de fibre); (2) absorbția unor principii nutritive și modificarea digestiei lor (prin gelul format de fibre se face o filtrare selectivă, în funcție de dimensiunile particulelor digerate); (3) modificarea tranzitului intestinal (durata tranzitului este invers proporțională cu cantitatea fibrelor alimentare din rație); (4) absorbția unor substanțe organice toxice sau cu potențial carcinogenetic (în special, produșii rezultați din degradarea acizilor biliari sub acțiunea florei bacteriene); (5) legarea unor cationi ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ); acțiunea hipolipemiantă (în special de scăderea concentrațiilor colesterolului și trigliceridelor din singe datorită reducerii absorbției lor intestinale, prin intervenția fibrelor vegetale).

Aportul insuficient de fibre alimentare în rație (mai mic de 20 g/zi) poate conduce, cu timpul, la instalarea unor afecțiuni grave, menționate în tabelul XXI.7.

În ceea ce privește necesarul de fibre alimentare în rația zilnică studiile sînt încă în curs. Pînă în prezent, proporția optimă se consideră a fi de cea 30 g/zi pentru persoane care depun efort fizic mediu și primesc prin rație 2 700 kcal/zi. Aportul de fibre alimentare al rației trebuie să fie totdeauna direct proporțional cu aportul său caloric.



## Afecțiuni datorate parțial consumului de rații sărace în fibre alimentare

Afecțiuni determinate de scăderea în volum a conținutului intestinal	Afecțiuni metabolice determinate de scăderea cu 30% a aportului de fibre
Colon iritabil Constipație Cancer de colon Diverticulită intestinală Apendicită cronică Varice Hemoroizi	Cardiopatie ischemică Diabet Obezitate Dislipemii Sarcină toxică Litiază biliară Carii dentare

Asigurarea unui aport corespunzător de fibre alimentare se realizează ușor prin introducerea în rația zilnică a legumelor și fructelor, precum și prin consumarea de pâine făcută cu făină integrală sau cu conținut bogat în țărțe. În general, trebuie alese acele componente vegetale ale căror fibre sînt formatoare de gel, acestea exercitînd cele mai bune efecte. Aportul de fibre alimentare nu trebuie să depășească 50 g/zi deoarece datorită efectelor de absorbție și legarea ionilor în intestin se pot produce pierderi de principii nutritive minerale (Zn, Mg, Fe, Ca) sau turburări în utilizarea unor vitamine (B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, C).

## XXI.3.8. APA

Apa este socotită drept alimentul indispensabil vieții deoarece asigură, în organism, desfășurarea normală a metabolismului tuturor celorlalte principii nutritive. Totodată, apa este cel mai abundent principiu nutritiv, ea reprezentînd cca 2/3 din greutatea corpului.

În corpul unui adult sănătos, aflat în condiții normale, se găsesc, în medie, 45 litri apă. Din această se pierde aproximativ 3 litri zilnic prin excreție, transpirație și perspirație. Pierderile de apă ale organismului depind aproape total de natura activității depuse și de condițiile mediului înconjurător. Aceste pierderi pot fi mai mici (de 1 litru/zi) la persoane sedentare aflate în climă temperată și cantități mari (de cca 10 litri/zi) la persoane care desfășoară munca la temperaturi ridicate. Dacă pierderile mari de apă nu se corectează imediat prin ingerări masive de apă, lapte, fructe și zarzavaturi (vezi tabelul XXI.8), în organism apar deficiențe severe cu repercusiuni foarte grave. Una dintre acestea este depleția de sare (clorură de sodiu) care însoțește adesea deshidratările înaintate.

## Conținutul în apă al unor alimente și băuturi aflate în rația zilnică

Alimentul sau băutura	Conținutul în apă (%)
Pline albă	35,8
Morcov	88,2
Mere	84,37
Pere	83,83
Struguri	79,12
Pepene verde	94,96
Lapte total	87,4
Lapte smântnit	90,5
Vin	85,6
Bere	92,1
Ou (fierit)	73,7
Zahăr rafinat	0,5
Ulei	

## XXI.4. PRINCIPALELE PRODUSE ALIMENTARE

Produsele alimentare, cele mai importante și frecvente în rația omului, se împart în două mari categorii :

- 1) produse alimentare de origine animală și
- 2) produse alimentare de origine vegetală.

Această clasificare nu corespunde numai diferenței de origine a produselor, ci ea ține seama și de unele deosebiri în compoziția chimică a alimentelor respective. Într-adevăr, cu excepția laptelui, toate produsele alimentare de origine animală sînt lipsite aproape complet de glucide pe cînd cele de origine vegetală sînt bogate în glucide dar cuprind mai puține proteine și lipide.

Pe lîngă aceste două mari categorii, există și o a treia categorie (mai restrînsă) de produse alimentare care cuprinde : produsele zaharoase, băuturile și condimentele.

Categoriile de produse alimentare menționate sînt descrise în cele ce urmează.

## XXI.4.1. PRODUSELE ALIMENTARE DE ORIGINE ANIMALĂ

## XXI.4.1.1. Laptele și produsele lactate

Valoarea nutritivă a laptelui a fost recunoscută din cele mai vechi timpuri, fiind considerat totdeauna a fi un aliment complet. Într-adevăr, laptele conține, pe lîngă cele trei categorii de principii imediate (proteine, lipide, glucide), importante minerale și vitamine.



*Proteinele* din lapte sînt : cazeina, lactoglobulina și lactalbumina. Ultimele două proteine enumerate sînt constituite, fiecare, din mai multe fracțiuni. Dintre fracțiunile lactoglobulinice, mai bine cunoscută și cercetată este  $\beta$ -lactoglobulina. Aceasta, împreună cu cazeina, reprezintă proteinele complete ale laptelui deoarece cuprind toți aminoacizii esențiali. Cazeina este o fosfoproteină care, în lapte, se află asociată cu calciu (cazeinat de calciu fiind distribuită sub forma unei soluții opalescente ce conferă, în parte, opacitatea albă a laptelui).

### *Lipidele*

În lapte lipidele se găsesc distribuite sub forma unei emulsii foarte fine și stabile. Ele sînt trigliceride, lecitine și colesterol. Lipidele din lapte reprezintă cele mai gustoase și cele mai digerabile grăsimi cunoscute, diferind de toate celelalte lipide prin compoziție ; ele cuprind toți acizii grași saturați cu număr par de atomi de carbon (de la  $C_4$  la  $C_{24}$ ) și mulți acizi grași nesaturați.

### *Glucidele*

Lactoza (dizaharid constituit din glucoză și galactoză) este glucidul caracteristic laptelui ; este mai puțin dulce decît zahărul.

### *Elementele minerale*

Cele mai reprezentative elemente minerale din lapte sînt : calciul, fosforul, sodiul, potasiul și clorul. În schimb, laptele cuprinde foarte puțin fier. Datorită acestui fapt, în cazul unui consum prelungit și exclusiv, lactat survine, uneori, anemia feriprivă. Lipsa fierului din laptele matern nu dăunează sugarilor deoarece ei se nasc cu o rezervă de fier care le acoperă necesarul pentru aproximativ 6 luni. După acest timp, lipsa fierului din lapte poate fi suplinită de cel aflat în gălbenușul de ou și în preparatele făinoase cu care se suplimentează hrana sugarilor.

### *Vitaminele*

Vitaminele laptelui aparțin ambelor categorii : liposolubile și hidrosolubile.

Dintre cele hidrosolubile predomină riboflavina, piridoxina, niacina, acidul pantotenic și vitamina  $B_{12}$ . Vitaminele liposolubile (A, D, E și K) se află concentrate în fracțiunea grasă a laptelui. În schimb, laptele este sărac în tiamină și vitamina C.

Proporțiile în care diverșii constituenți se găsesc în lapte variază în raport cu specia de la care provine laptele respectiv (tabelul XXI.9).

Datorită proporțiilor diferite de constituenți este foarte greu să se înlocuiască laptele de hrană al unei specii cu laptele provenit de la altă specie.

Tabelul XXI.9

**Compoziția procentuală a laptelui provenit de la diferite specii**

Specie	Proteine	Grasimi	Lactoză	Substanțe minerale (cenusă)
Femeie	1,0*	2,9	6,7	0,2
Vacă	3,7	3,5	4,5	0,75
Capră	4,2	4,1	4,6	0,8
Bivolită	4,3	8,2	5,0	0,8
Oale	5,7	6,8	4,5	0,85

\* Valorile din tabel sînt exprimate în grame pentru 100 ml lapte

Cu privire la compoziția cantitativă a laptelui de femeie, menționată în tabelul XXI.9, este de remarcă că ea se reflectă la cel cu care se hrănesc sugarii după cîtva timp de la naștere (nu în primele zile). Imediat după naștere glanda mamară secretă colostrul care cuprinde o proporție mai mare de proteine, cel puțin dublă decît în laptele obișnuit. Dintre proteinele care predomină în colostru se remarcă lactoglobulinele, considerate aproape identice cu  $\gamma$ -globulinele din plasmă. În această fracțiune globulinică din lapte se găsesc numeroși anticorpi protectori, ceea ce explică imunitatea conferită de laptele matern pentru non-născuți.

Pe lîngă lapte, ca atare, în hrana omului intră și unele produse lactate. Principalele produse lactate folosite în alimentație sînt: smîntîna, untul, brînză și produsele lactate acide.

**Smîntîna.** Dacă laptele proaspăt nu se fierbe ci se păstrează cîtva timp, fără a-l agita, se observă că grăsimea pe care o cuprinde se concentrează la suprafață sub forma unei păhuri. Aceasta este smîntîna care conține 30—35 % lipide. Odată cu lipidele, în smîntîna se concentrează și vitamina A din lapte. Alături de aceasta, smîntîna mai cuprinde și alți constituenți ai laptelui (proteine, săruri, lactoză).

**Untul.** Prin agitare dirijată a smîntinei se separă lipidele, constituind untul. El conține peste 80 % din lipidele laptelui. Totodată, în unt este concentrată aproape întreaga cantitate de vitamina A din lapte. Bineînțeles, ca și smîntîna, untul mai cuprinde și proteine, săruri, lactoză.

**Brînză** se obține prin separarea cazeinei (asociată cu o cantitate mai mare sau mai mică de lipide) din lapte. Există diverse varietăți de brînză (de vacă, telemea, de burduf, cașcaval, schweitzer) obținute în condiții deosebite de preparare. În compoziția brînzei (de orice fel) intră următoarele substanțe: apă (25—40 %), proteine (16—26 %), lipide (18—30 %), substanțe minerale (0,5—4 %) și foarte puține glucide.

**Produsele lactate acide.** În această categorie intră: laptele bătut și iaurtul.

Aceste produse lactate au o deosebită valoare nutritivă, asemănătoare laptelui dulce, iar constituenții se află sub forme ușor asimilabile. Pentru acest motiv ele sînt folosite mult atît în alimentația omului sănătos, cît și a celor bolnavi.



## XXI.4.1.2. Ouăle

Așa cum laptele este alimentul complet și special produs pentru hrana mamiferului tânăr, tot astfel oul de pasăre reprezintă alimentul complet și special alcătuit pentru embrionul de pasăre. În acest material se fac referiri numai la constituția oului de găină care, după cum se știe, pe lângă faptul că asigură dezvoltarea embrionului de pui, reprezintă și un excelent aliment pentru om.

Oul (de găină) este constituit din coajă (11%), albuș (59%) și gălbenuș (30%). Partea sa comestibilă (albușul și gălbenușul împreună) cuprinde: proteine 13%, lipide 11,8%, glucide 1% și săruri minerale 0,8%.

Deoarece albușul conține 88% apă el poate fi considerat drept o soluție de proteine și săruri. Majoritatea proteinelor din albuș este formată din albumine; în cantitate mai mare se află *ovalbumina*, iar în proporție mai mică *ovomucoidul* și *avidina*. Aceasta din urmă formează o combinație complexă, stabilă, cu biotina împiedecînd-o să-și exercite acțiunea sa vitaminică. Prin fierbere însă avidina se denaturează și în felul acesta, albușul coagulat (întărit) nu mai păstrează capacitatea de a inhiba biotina.

Gălbenușul este mai consistent decît albușul (conține 49% apă) și se deosebește de albuș printr-un conținut mare de lipide și vitamine. Lipidele din gălbenuș (33%) sînt, în marea lor majoritate (30%), fosfolipide iar restul (cca 3%) colesterol aflat în stare emulsionată. Fosfolipidele din ou sînt de tip lecitine, bogate în colină și acizi grași nesaturați. Gălbenușul cuprinde și el proteine importante, complete, conținînd toți aminoacizii esențiali. Dintre elementele minerale, în gălbenuș predomină: calciul, fierul, fosforul (ca fosfați), sulful, potasiul, iodul, manganul și cuprul. Gălbenușul constituie și o bogată sursă vitaminică, el conținînd vitaminele liposolubile A, D, E, iar dintre cele hidrosolubile predomină vitaminele B<sub>2</sub> și B<sub>6</sub>. Gălbenușul nu conține însă vitamina C.

## XXI.4.1.3. Carnea

Valoarea nutritivă și compoziția chimică a cărnii, cu care se hrănește omul, variază relativ puțin în raport cu specia de la care provine. De aceea, considerațiile făcute aici privesc deopotrivă carnea de vacă, vițel, berbec, miel, porc și pasăre (tabelul XXI.10).

Cel mai important constituent al cărnii este reprezentat de proteine iar dintre ele, cea mai valoroasă este miozina, care predomină în țesutul muscular. Miozina este o proteină completă și de valoare nutritivă egală cu cea a proteinelor din lapte și ouă. Se consideră că, practic, carnea nu conține glucide. În realitate, ea cuprinde cantități foarte mici (sub 0,5%) de glucide, iar ficatul conține cantități apreciable de glicogen.

Dintre minerale, carnea cuprinde, în general, mult fosfor (ca și gălbenușul), dar puțin calciu (a 10-a parte din cel aflat în lapte). În schimb, carnea conține cantități mai mari de potasiu, clor și sodiu. În proporții mai mici, dar totdeauna prezente, în carne se găsesc elementele minerale fier și cupru.

## Conținutul cărni în apă, principii imediate și substanțe minerale

Specia de proveniență a cărni	Apă	Proteine	Lipide	Glucide	Substanțe minerale
Vacă	39*	17,4	8,3	0,3	0,194
Vițel	64	17,1	7,4	0,3	0,224
Berbec	43	14,1	18,2	0,2	0,677
Miel	77	20,1	2,2	—	—
Pore	33	10,1	13,7	0,2	0,607
Glscă	70	16,4	31,5	—	0,817
Găină	70	21,6	2,7	—	0,243
Rată	72	16,0	28,6	—	0,661

\* Valorile consemnate în tabel reprezintă procente din produsul analizat

Printre vitaminele din constituția cărni se remarcă cele din complexul B (în special, tiamina, riboflavina și niacina). Carnea conține puține vitamine liposolubile și vitamină C. Numai ficatul animalelor menționate în tabelul XXI.10 cuprinde proporții mai mari de vitamine liposolubile și cantități importante de riboflavină precum și de vitamină B<sub>12</sub>.

## XXI.4.1.4. Peștele

Țesutul muscular al peștilor este constituit din aceleași substanțe ca și cel provenind de la animalele menționate anterior (tabelul XXI.10), iar proporțiile în care intră majoritatea principalilor constituenți ai cărni de mamifer sau pasăre și ai celei de pește sînt mult apropiate (tabelul XXI.11). Există însă deosebiri în ceea ce privește proporția de lipide deoarece carnea de pește conține, în general, puține substanțe grase. Totuși, unele varietăți de pește fac excepție din acest punct de vedere, spre exemplu, scrumbiile conțin cea 13% lipide. În lipidele peștilor predomină acizii grași superiori nesaturați. Pentru acest motiv peștele este considerat o sursă excelentă de acizi grași esențiali. Majoritatea proteinelor din țesutul muscular al peștilor sînt de natură superioară, cuprinzînd aproape toți aminoacizii esențiali, iar elementele minerale sînt din cele mai valoroase pentru organismul uman. În funcție de natura peștilor (de apă dulce sau marini), elementele minerale predominante sînt diferite. Astfel, peștii de apă dulce conțin magneziu, fosfor, fer și cupru, iar cei de apă sărată sînt bogați în iod, fluor, cobalt, vanadiu și zinc. Ficatul anumitor pești (morrhua, ton albastru) reprezintă o prețioasă sursă naturală de vitamine A și D. Dintre vitaminele hidrosolubile, carnea de pește cuprinde în special niacina, vitamina B<sub>1</sub> și B<sub>2</sub>.

În tabelul XXI.11 sînt prezentate valorile procentuale în care se găsesc principalele substanțe nutritive din constituția țesutului muscular al unor pești de apă dulce și marini.



## Constituenții principali ai țesutului muscular de pește

Peștele		Apă	Proteine	Lipide	Glucide	Substanțe minerale
Categoria	Denumirea					
De apă dulce	Crap	33*	7,5	3,9	—	0,121
	Știucă	—	18,7	0,6	—	0,771
	Păstrăv	—	19,2	2,1	—	0,760
De apă sărată	Morun	38	16,5	0,4	—	0,783
	Scumbie	35	18,7	12	—	0,827
	Calcan	—	14,9	10,5	—	0,721

\* Valorile din tabel reprezintă procente din produsul analizat

Din datele tabelului XXI.11, precum și din cele menționate anterior, rezultă că includerea peștelui în rația alimentară a omului este cit se poate de indicată. Trebuie luate precauții privind consumarea sa deoarece carnea de pește se alterează foarte ușor.

## XXI.4.2. PRODUSELE ALIMENTARE DE ORIGINE VEGETALĂ

Se obișnuiește a se grupa alimentele de origine vegetală în următoarele trei mari categorii : (1) cereale, (2) legume și (3) fructe. La rindul lor, legumele și fructele se grupează în mai multe subcategorii.

## XXI.4.2.1. Cerealele

Cerealele folosite de obicei pentru hrana omului sînt : grîul, porumbul, orezul și secara. Deoarece în alimentație se folosesc preparate care au la bază făina obținută din boabele (semințele) cerealelor, în cele ce urmează se fac unele considerații cu privire la constituția boabelor.

Constituenții principali ai semințelor (boabelor) de cereale sînt : apa (11%), proteinele (11%), glucidele (70%) și substanțele minerale 2%. Procentul de lipide este variabil : 0,5—8%.

Proteinele fac parte din categoria celor simple și anume : prolamine, globuline, albumine, gluteline și gliadine.

Lipidele cerealelor conțin cantități apreciabile de trioleină și, de aceea, se găsește sub formă lichidă la temperatura obișnuită.

Glucidele sînt reprezentate, în cea mai mare parte, de amidon și, în proporție mai mică, de celuloză.

Elementele minerale sînt localizate atît în straturile de înveliș ale bobului, cît și în embrion. Cele mai abundente sînt : potasiu, magneziu, calciu și fosfor.

Ultimele două elemente minerale citate se află în parte, sub formă de acid fitic (hexafosfatul inozitolului). Acidul fitic, ca atare, nu este utilizat de către organismul omului; de asemenea, el împiedică absorbția calciului, motiv pentru care se consideră că cerealele au un efect anticaleficiant. Există însă unele cereale (grâu, secară) care conțin o enzimă (fitaza) capabilă să hidrolizeze acidul fitic, diminuând astfel efectul anticaleficiant.

Orezul face parte din cerealele cele mai sărace în proteine, lipide și minerale. În schimb, bobul de orez este foarte bogat în amidon (cca 80%).

Porumbul este o cereală cu bobul bogat în lipide (cca 4%). Din embrionul bobului de porumb se extrage așa-numitul ulei de germene de porumb, cu mare valoare nutritivă deoarece conține acizi grași polinesaturați, esențiali. Proteina principală din porumb este zeina (o gliadină) cu conținut scăzut în aminoacizi esențiali, fiind lipsită complet de triptofan și lizină. Pentru acest motiv, ea este considerată o proteină cu valoare biologică redusă; porumbul este sărac în vitamine din complexul B.

### Făina și piinea

Pentru obținerea făinii albe (70% extracție) se îndepărtează, în timpul măcinatului, țărița și germenele (în proporție de 30%). Făina integrală se obține prin măcinarea întregului bob.

Pentru ca să poată servi ca aliment, făina, care conține amidon insolubil, trebuie să devină ușor digerabilă. Modul cel mai potrivit de realizare a acestui deziderat este transformarea sa în piine (panificația). Panificația se bazează pe proprietatea glutenului (constituit de gliadină și glutelină) de a forma cu apa o cocă. În procesul panificației coca „crește”, adică își mărește volumul și devine afinată, reținând în masa ei dioxid de carbon produs de fermentația alcoolică a glucozei sub acțiunea drojdiei de bere. La rindul său, glucoza provine din amidon, sub acțiunea amilazei din făină. Prin coacere, coca crescută se întărește luând aspectul spongios al piinii. Totodată, în timpul coacerii o parte din amidonul insolubil al făinii este transformat în amidon solubil și dextrine care reprezintă compuși ușor digerabili.

În afară de piine, din făină se mai obțin și alte preparate (făinoase și de patiserie) care intră în alimentația curentă a omului: macaroane, tăiței, biscuiți, cozonac, prăjituri etc.

## XXI.4.2.2. Legumele

Legumele sînt o categorie de vegetale folosite mult în alimentație deoarece cuprind numeroase substanțe nutritive și pot fi preparate în moduri foarte variate. Spre deosebire de alte categorii de vegetale, legumele oferă, ca parte comestibilă, fie una din regiunile lor constitutive (rădăcina, tulpina, bulbul, florile, fructele, semințele, frunzele), fie plantele în întregime.

Din punct de vedere al compoziției lor chimice, legumele conțin multă apă (75—95%), glucide (1—2%) și cantități reduse de proteine precum și grăsimi. În schimb, legumele cuprind proporții importante de vitamine și elemente minerale.



Legumele sînt grupate în zece clase : (1) rădăcinoase, (2) bulbifere, (3) tuberculifere, (4) vărzoase, (5) fructoase, (6) păstăioase și boabe (leguminoase), (7) frunzoase, (8) condimentare, (9) perene și (10) ciuperci comestibile. Aceste categorii, ilustrate prin exemple și cu specificarea constituenților caracteristici, sînt consemnate în tabelul XXI.12.

Tabelul XXI.12

**Principalele categorii de legume folosite în rația alimentară și constituenții lor caracteristici**

Categoria de legume	Exemple	Constituenți caracteristici	Utilizări și acțiuni
1	2	3	4
Rădăcinoase	Morcov	Vitamine : B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> ; caroten Elemente minerale : Fe, Cu, Ca, P (fosfat) Substanțe pectice	Se folosește în tratamentul colitei
	Pătrunjel	Vitamina C	Plantă condimentară
	Păstîrnac	Uleiuri volatile, eterice Uleiuri volatile, eterice	Plantă condimentară
	Țelină	Vitamine : B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C Vitamine : A, complex B, C Săruri de calciu	Are acțiune diuretică (ceai)
	Rădichi	Substanțe aromatice Vitamine : B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C Compuși sulfurați specifici	Au acțiune diuretică
	Sfeclă	Compuși sulfurați specifici Glucide Vitamine : B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C Minerale : K, Ca, P Radicali metil liberi	Iau parte la diverse biosinteze în organism și procese de detoxifiere în ficat
Tuberculifere	Cartof	Amidon Asparagină, tubarina (proteină) Vitamina C, Fe	Aliment de bază hidrocarbonat (substituent al cerealelor)
Bulbifere	Ceapă	Glucide	Vermifug
	Usturoi	Vitamine : complex B, C	Vermifug
	Praz	Uleiuri volatile Elemente minerale : Ca, P	Acțiune colagogă
Vărzoase	Varză	Substanțe tioanogenelice Vitamina C Minerale : Ca	Împiedică fixarea I în tiroidă
	Guliș	Vitamine : complex B, C, K	
	Conopidă	Minerale : Ca, K	
Fructoase	Pătlăgele vinete	Caroten, vitamine B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C	
	Pătlăgele roșii	Minerale : Fe, K, Ca, Mg, P, Cl	
	Ardei	Ascorbatoxidază ; descompune vit. C	Valoare nutritivă redusă
	Castraveți		
	Dovlecei	Minerale	

1	2	3	4
Păstăioase și leguminoase	Fasole Mazăre Linte	Caroten și vitamine : B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C, E, PP Minerale : Ca, K, P, Fe, Mg	
	Bame	Proteine în forme uscate glucide și lipide : acizi grași esențiali	
Frunzoase	Spanac Salată verde Lobodă	Vitamine : B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , E, K : caroten Minerale : Fe, P, Ca, Cu, K	
Condimentare	Măcriș Piper, muștar, boia, usturoi, ceapă, praz, hrean, chimen, cimbru, leuștean, mărar, tarhon, pătrunjel, dafin, scorțișoară, vanilie, anason Sarea de bucătărie	Uleiuri eterice cu mirosuri aromatice  Cl, Na, Mg, Ca, I	Folosite în formă proaspătă și uscată la prepararea mâncărilor și produselor zaharoase
Perene	Sparanghel Anghinara Hreanul		Diuretic Efect colagog
Ciuperci comestibile	Diverse varietăți	Glucide Vitamina C Enzime (peroxidaza) Minerale : K, Ca, Mg, Fe Apă Minerale : K, P, Fe, Ca, Mg, Cu, Na Vitamine : A, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , C, D Proteine Lipide	
	Drojdia de bere	Foarte bogată în vitamine din complexul B.	

## XXI.4.2.3. Fructele

Fructele sînt alimente de origină vegetală care au o valoare energetică aproape dublă față de cea a legumelor. Această proprietate se datorează conținutului lor bogat în glucide : zaharuri simple (glucoză, fructoză), zaharoză și amidon în fructele tropicale (banane). Fructele conțin și multe vitamine precum și elemente minerale. Proteinele și lipidele nu intră decît în cantități foarte mici în compoziția fructelor. Unele fructe (nuci, măsline) conțin însă multe lipide, de aceea, sînt folosite ca materii prime pentru extragerea uleiurilor respective.

Cu excepția vitaminelor, în tabelul XXI.13 sînt menționați constituenții principali ai unor fructe folosite curent în alimentația omului.



## Principiile nutritive din constituția unor fructe

Fructe	Apă	Proteine	Lipide	Glucide		Substanțe min-rale
				Fără celuloză	Celuloză	
Mere	84,37*	0,40	—	12,13	1,98	0,42
Pere	83,83	0,35	—	9,16	—	0,29
Prune	82,78	0,66	—	10,08	5,41	0,71
Vișine	80,57	1,29	0,43	11,17	—	0,52
Struguri	79,12	1,01	—	15,21	—	0,48
Portocale	84,26	1,08	—	6,08	6,08	—
Pepeșe verde	94,96	0,72	0,06	4,13	0,10	0,28
Pepeșe galben	91,50	0,83	0,13	6,35	0,66	0,52
Căpșuni	86,99	0,59	0,45	0,24	2,32	1,82
Zmeură	85,12	0,40	—	5,33	2,92	0,49

\* Valorile consemnate în tabel reprezintă procente din produsul analizat.

Datorită compoziției lor bogate în elemente nutritive fructele trebuie să fie nelipsite în rația alimentară completă a omului. Eficiența maximă o are consumul de fructe proaspete căci, oricare ar fi formele de conservare, acestea contribuie la pierderea unora din principiile lor nutritive. Cu privire la consumul fructelor proaspete este preferabil să se mănince cele bine coapte căci conțin proporții mai mari de zaharuri simple, asimilabile ușor, față de fructele necoapte (verzi). Dacă din cauza unor afecțiuni este indicat numai consumul fructelor sub formă de compot, fierberea trebuie să fie rapidă, evitându-se pierderile de substanțe nutritive.

## XXI.4.3. ALTE PRODUSE ALIMENTARE

Așa cum s-a mai menționat, o grupă mică de produse alimentare cuprinde: produsele zaharoase, băuturile și condimentele. Ele fac parte din rația completă a omului deși nu cuprind principii nutritive într-o proporție apreciabilă, comparabilă cu produsele de origine animală sau vegetală.

## XXI.4.3.1. Produsele zaharoase

Aceste produse sînt dulciuri concentrate și caracterizate prin conținutul lor în zaharuri cu moleculă mică (glucoza, fructoza, zaharoza) care le conferă gustul dulce, plăcut. Sînt ușor digerabile și absorbabile iar, în urma metabolizării, eliberează cantități relativ mari de energie. În compoziția produselor

zaharoase mai pot intra : mierea, amidonul, laptele, diverse grăsimi (unt, margarină), semințe de plante (alune, nuci), fructe (conservate în zahăr sau alcool) gemuri, gelatină, substanțe aromate, coloranți (naturali sau artificiali).

Produsele zaharoase se clasifică în următoarele categorii : dulciuri, preparate din zahăr și fructe, produse din zahăr și semințe oleaginoase, mixturi complexe.

### *Dulciurile*

Acestea sînt constituite din glucide pure. Exemple : zahăr, miere, bomboane, rahat.

### *Preparate din zahăr și fructe*

În această categorie intră : dulceața, marmelada, fructele zaharisite, jeleul.

### *Produse din zahăr și semințe oleaginoase*

Exemple de asemenea produse sînt : ciocolata și halva.

### *Mixturi complexe*

Acestea sînt produse de cofetărie : checuri, fursecuri, torturi, înghețată.

## **XXI.4.3.2. Băuturile**

Băuturile consumate curent sînt grupate în două categorii : băuturi alcoolice și băuturi nealcoolice.

### *Băuturile alcoolice*

În funcție de materia primă din care provin, modul de preparare și porțiile de alcool etilic conținut, băuturile alcoolice sînt foarte variate. Deși alcoolul etilic pe care-l cuprind posedă o valoare energetică apreciabilă (7 Kcal/g), datorită acțiunilor sale farmacologice devine repede nociv organismului. De aceea, consumul băuturilor alcoolice trebuie să fie restrins



Băuturile alcoolice consumate frecvent sînt : vinul, berea, lichiorurile. În afară de aport calorigen, valoarea nutritivă a băuturilor alcoolice este discutabilă.

### Băuturile nealcoolice

Aceste băuturi au valori nutritive evidente și de aceea sînt utilizate curent.

Băuturile nealcoolice care se consumă mai mult sînt : apa potabilă, apele minerale, sifonul, ceaiurile medicinale, sucurile de fructe și de legume, nectarul, siropurile de fructe, diverse băuturi cu efecte stimulante (ceai, cafea, cacao).

Dintre băuturile nealcoolice, sucurile de fructe și de legume au valoare nutritivă deosebită. Ele păstrează în compoziția lor principiile nutritive ale plantelor (fructelor sau legumelor) din care provin : glucide, săruri minerale, vitamine și diverse substanțe bioactive. Pentru acest motiv, multe din ele sînt indicate și în tratamentul unor afecțiuni.

### XXI.4.3.3. Condimentele

Condimentele au valoare nutritivă foarte redusă (practic nulă) dar, datorită compoziției lor bogate în substanțe aromatizante sînt folosite la prepararea alimentelor și a multor produse zaharoase.

În funcție de gustul pe care-l conferă, condimentele sînt grupate în 5 categorii :

- *Condimente acide* : oțet, acid citric, acid tartric.
- *Condimente picante* : piper, muștar, boia.
- *Condimente aromate* : chimen, cimbru, tarhon, leuștean, mărar, pătrunjel, dafin, vanilie, anason.
- *Condimente aliacee* : usturoi, ceapă, praz, hrean.
- *Condimente saline* : sarea de bucătărie.

### XXI.4.4. ALIMENTE BOGATE ÎN AMINOACIZI ESENȚIALI

În subcapitolul privind proteinele, ca o categorie de principii nutritive, s-a subliniat faptul că prezența și proporția echilibrată a aminoacizilor esențiali în produsele alimentare din rație joacă roluri decisive în creșterea organismelor tinere și în menținerea stării de întreținere a organismului adult.

Alimentele ca : produsele lactate, carnea (de vită, porc, pasăre), peștele, au un conținut ridicat de proteine care cuprind aminoacizi esențiali în proporții apreciable și echilibrate, corespunzătoare nevoilor organismului. În schimb, după cum reiese din tabelul XXI.14, multe legume și fructe conțin proteine

Conținutul în aminoacizi esențiali a unor alimente

Categorie	Alimentul	Denumirea	Cantitatea (g)	Conținutul proteic (g)	Aminoacizi esențiali (mg)							
					Trp	Leu	Lys	Met	Pha	Isl	Val	Thr
Cereale	Fâina de grâu		110	7,9	119	437	416	134*	296	267	394	282
	Țărâșă de grâu		29	4,6	74	273	199	56*	167	185	213	130
	Germele de grâu		6	1,8	16	110	99	26*	58	76	88	86
Ou	Orez		191	13	140	1 107	503	230*	643	604	900	503
	Albuș		31	3,4	51	296	204	133*	214	218	262	150
Lapte	Gălbenuș		17	2,72	39	235	185	171	123	140	190	140
	Unt		246	8,9	90	809	678	188*	433	514	613	384
	Caimec (smântână)		64	23	320	2 260	1 780	570*	1 095	1 461	1 575	1 073
Pește	Iaurt		250	4,3	93	842	706	196*	450	536	638	400
	Hering		453	91	924	6 930	8 040	2 681*	3 420	4 711	4 896	3 973
	Scrimbie		453	87	957	7 178	8 326	2 775*	3 541	4 785	5 072	4 115
Carne	Vacă		453	120	1 354	8 338	6 772	2 167*	4 515	3 786	5 689	4 334
	Vacă croier		453	47	625	3 828	3 443	997*	2 292	2 283	2 428	2 238
Fructe	Pore		453	137	381	3 048	2 476	610*	1 829	1 676	1 829	1 295
	Pore costilă		453	93	1 410	8 686	7 005	2 242*	4 670	4 950	5 884	4 484
	Măr		130	0,26	—*	17	14	5	12	19	12	10
Legume	Caiașă		38	0,38	—*	68	68	13	38	41	56	48
	Cantalup		100	0,70	1	—*	18	2	—*	—*	—*	—*
	Curmală		10	0,22	6	8	7	3*	6	7	9	6
	Smochină		38	0,46	20	103	95	20*	57	72	91	76
	Portocală		180	1,8	5	48	48	5	—*	—*	—*	—*
	Fasole verde		125	2	28	116	104	30*	48	90	96	76
	Morcov		100	1,1	9	59	48	9*	38	42	51	40
	Salată verde		100	0,3	13	—*	75	4	—*	—*	—*	—*
	Cartof		100	2,1	36	120	99	38*	116	101	157	99
	Pătăgău roșie		240	2,4	22	98	101	17*	67	70	67	79
	Pătăgău roșie (suc)		200	1,8	16	74	76	12	50	52	50	60

\* Aminoacid esențial limitant



care cuprind cantități foarte mici sau sînt lipsite complet de unii aminoacizi esențiali. Acest fapt face ca nici restul aminoacizilor esențiali din proteinele legumelor sau fructelor respective să nu mai fie utilizat pentru refaceri tisulare ci numai în scop energetic. Neajunsul poate fi însă corectat prin asocierea în rație a produselor alimentare cuprinzînd proteine sărace în aminoacizi esențiali (sau lipsite de anumiți aminoacizi esențiali) cu alimente care conțin proteine complementare, adică bogate în aceeași aminoacizi esențiali. Prin asemenea combinări potrivite se reușește să se acopere necesarul nutritiv al organismului cu proteine utilizabile. De fapt, unul din cele mai importante deziderate în alcătuirea rațiilor alimentare cu conținut proteic cît mai util este reprezentat de echilibrarea aminoacizilor esențiali.

#### XXI.4.5. REPARTIZAREA UNOR PRINCIPII NUTRITIVE ÎN CELE MAI IMPORTANTE PRODUSE ALIMENTARE

La încheierea studiului principiilor nutritive (în subcapitolul 3) și după descrierea celor mai importante produse care intră în alcătuirea rației zilnice a omului (expusă în acest subcapitol), este util să se facă o prezentare sinoptică a relațiilor de strictă dependență dintre cele două categorii de substanțe alimentare. În acest scop s-a întocmit tabelul XXI.15 care permite, totodată, și evidențierea unui nou criteriu de grupare posibilă a produselor alimentare în funcție de conținutul lor în principii nutritive. Din analiza tabelului XXI.15 se observă că unele alimente conțin majoritatea principiilor nutritive (indiferent de proveniența lor animală sau vegetală), altele cuprind un număr redus de principii nutritive, iar în cîteva alimente se află foarte puține principii nutritive.

Tabelul XXI.15

##### Repartizarea principiilor nutritive în cele mai importante produse alimentare

Principii nutritive	Produse alimentare
Apa	Băuturi, fructe, legume
Glucide	Zahăr, sirop, miere, boabe de cereale, fructe, legume
Lipide	Unt, margarină, uleiuri vegetale, grăsimile din carne, produse lactate, nuci, semințe de plante oleaginoase.
Proteine	Carne (de vită, de porc, de pasăre), pește, ouă, lapte și produse lactate, boabe (semințe) de cereale.
Vitamine:	
Vitamina A	Ficat, ouă, ulei de ficat de pește, lapte și produse lactate, fructe și zarzavaturi.
Tiamina	Drojdia de bere, boabe (nedecorticate) de cereale, carne, pește, pui, gălbenuș de ou, nuci, legume.
Riboflavina	Drojdia de bere, boabe de cereale, carne (organe), gălbenuș de ou, nuci, legume.
Piridoxina	Drojdia de bere, boabe de cereale, germene de grâu, carne, legume cu frunze verzi comestibile.

Principii nutritive	Produse alimentare
Niacina	Carne (slabă), pui, pește, drojdie de bere, lapte și produse lactate, orez, nedecorticat.
Vitamina B <sub>12</sub>	Carne (organe) pește, ouă, brânză.
Biotina	Gălbenuș de ou, ficat, orez nedecorticat, drojdie de bere, boabe de cereale, legume.
Inozitol	Boabe de cereale, drojdie de bere, carne, lapte, nuci, fructe citrice, zarzavaturi.
Acid folic	Frunze verzi și rădăcini de zarzavaturi, carne (organe), drojdie de bere, boabe (nedecorticate) de cereale, lapte.
Acid pantotenic	Carne (organe), gălbenuș de ou, drojdie de bere, boabe de cereale, germene de grâu, legume.
Vitamina C	Fructe citrice, cantalup, pepene verde, căpsuni, tomate.
Vitamina D	Pește (sardeli, heringi), lapte și produse lactate, carne (organe), făină de oase, gălbenuș de ou.
Vitamina E	Germene de grâu, ouă, carne (organe), uleiuri vegetale, cartofi, frunze verzi de zarzavaturi.
Vitamina K	Frunze verzi de zarzavaturi, gălbenuș de ou, fasole, soia.
Bioflavonoide	Fructe citrice.
Elemente minerale:	
Calciu	Lapte și produse lactate, legume cu frunze verzi, făină de pește.
Clor	Sare, carne, măsline, făină de secară.
Cobalt	Carne (organe), pui, lapte, legume cu frunze verzi, fructe.
Crom	Ulei de germene de porumb, boabe nedecorticate de cereale, drojdie de bere.
Cupru	Carne (organe), legume, nuci, struguri.
Fier	Carne, pui, pește, ouă, legume cu frunze verzi, fructe uscate.
Fluor	Geai, apă fluorinată, făină de oase.
Fosfor	Carne, pește, pui, ouă, lapte și produse lactate, legume, boabe de cereale, nuci.
Magneziu	Boabe nedecorticate de cereale, legume verzi, nuci.
Mangan	Boabe nedecorticate de cereale, legume cu frunze verzi, nuci, gălbenuș de ou.
Molibden	Legume, lapte, ficat.
Potasiu	Carne (slabă), boabe nedecorticate de cereale, semințe de floarea soarelui, legume, fructe uscate.
Seleniu	Pește (heringi), drojdie de bere, boabe nedecorticate de cereale, germene de grâu.
Sodiu	Sare, produse lactate, țelină.
Sulf	Pește, ouă, carne, varză.
Vanadiu	Pește.
Zinc	Carne (organe), drojdie de bere, fasole, soia.

## XXI.5. CONTRIBUȚIA NUTRIȚIEI LA PĂSTRAREA SĂNĂTĂȚII

Din prezentarea noțiunilor esențiale de nutriție, expuse în acest capitol, se poate desprinde cu ușurință, ideea că rația alimentară corespunzătoare necesităților organismului este cea care conține alimente variate și cu concen-



trații mari de principii nutritive. (Majoritatea acestora sînt cuprinse în tabelul XXI.15). Studii, relativ recente, au dovedit că într-o rație obișnuită, completă există 40—50 principii nutritive care se află în strînsă interrelație. Aceasta este total corespunzătoare interrelației metabolismelor desfășurate continuu în organism. Așa cum funcționarea defectuoasă a unei enzime participante sau absența unei singure reacții biochimice tulbură întregul metabolism din care face parte și antrenează disfuncții în metabolismele conexe, tot astfel absența unuia sau mai multor principii nutritive din rație poate determina tulburări funcționale sau chiar maladii de origine nutrițională. Tulburări funcționale (sau unele maladii) pot fi provocate și de excesul principiilor nutritive. Pentru aceste motive trebuie ca printr-un regim alimentar adecvat să se înlăture, cît mai repede posibil, asemenea situații extreme.

În cazul aportului insuficient de substanțe nutritive este necesar să se administreze suplimentele alimentare corespunzătoare cerințelor. Pe de altă parte, excesul nutritiv trebuie combătut prin reducerea cantitativă și calitativă a substanțelor alimentare, pînă la atingerea strictului necesar stării de întreținere. În vederea realizării unor asemenea deziderate și pentru a se putea păstra în permanență echilibrul alimentar este nevoie să se coreleze aporturile principalelor categorii de principii nutritive ale rației cu cheltuiala energetică depusă. Studiile statistice efectuate în această problemă au dus la concluzia că cele mai corespunzătoare proporții ale principalelor categorii de principii nutritive, necesare acoperirii nevoilor energetice, sînt cele din tabelul XXI.16.

Tabelul XXI.16

**Aporturile principalelor categorii de principii nutritive ale rației, exprimate în procente din cheltuiala energetică**

Principiul nutritiv	% din cheltuiala energetică totală	
Glucide totale	58	
zaharuri complexe și din surse naturale		48
zahăr rafinat		10
Proteine totale	12	
Lipide totale	30	
Saturate		10
Nesaturate		10
Polinesaturate		10
Cholesterol (mg, zi)		300
Sare (g, zi)		5

Ținînd seama de cifrele consemnate în tabelul XXI.16 și de avantajele sau neajunsurile consumului anumitor alimente se pot formula cîteva considerații utile. Astfel, pentru asigurarea sănătății și înlăturarea riscurilor întîlnite (hiperlipemie, diabet, hipertensiune, ateroscleroză, obezitate) este necesar ca în alimentația normală să se urmărească reducerea consumului de

glucide (în special concentrate), lipide (grăsimi saturate, colesterol) și sare. Este preferabil ca înlocuirea parțială a grăsimilor saturate din rație să se realizeze prin uleiuri cuprinzând acizi grași nesaturați, inclusiv cei esențiali.

Pê de altă parte, este recomandabilă creșterea consumului de legume și fructe asigurându-se astfel aportul constant și suficient de vitamine, minerale și fibre alimentare. Un alt fapt deosebit de important este ca administrarea rațiilor complete să fie regulată, la intervale bine stabilite și respectate. În caz contrar, pierderile energetice nu mai pot fi acoperite de aporturile alimentare. În asemenea condiții, organismul consumă din propriile rezerve energetice (glicogen, lipide de depozit). Situația aceasta nefavorabilă este întărită și la începutul perioadelor de Nealimentație. Ulterior, dacă lipsa de alimentație se prelungește, rezervele energetice proprii se epuizează și se ajunge chiar la utilizarea proteinelor constitutive. Consumul proteinelor proprii este evidențiat printr-un intens bilanț azotat negativ, ceea ce reprezintă o situație foarte gravă pentru organism și care trebuie evitată.



## Bibliografie selectivă

- Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. D. — *Molecular Biology of the Cell*, Garland Publishing, Inc., New York, London, 1983.
- Anner Beatriee M. — The receptor function of the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  — activated adenosine triphosphatase system, *Biochem. J.*, 1985, 227, 1.
- Armstrong F. B. — *Biochemistry*, Oxford University Press, 1983.
- Bedeleanu D. D., Manta I. — *Biochimie medicală și farmaceutică*, Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1985, vol. I.
- Belloiu D. D., Belloiu Irina — Metabolic and endocrine modulation of anabolic and catabolic pathways of glucose and fatty acids, *Rom. J. Med. — Endocrinol.*, 1986, 24 (3), 143.
- Blake C. C. F., Johnson L. N. — Protein structure, *Trends Biochem. Sci.*, 1984, 9, 147.
- Bishop J. M. — Retroviruses, *Ann. Rev. Biochem.* 1978, 47, 35.
- Ceeh T. R. — RNA as an enzyme, *Scientific American*, 1986, 255 (5), 76.
- Cheung, W. Y. — Calmodulin, *Scientific American*, 1982, 246, 62.
- Cohen P. — Recently discovered systems of enzyme regulation by reversible phosphorylation, Elsevier, Amsterdam, New York, 1980.
- Cohen P. — „Die Regulation der Enzym Aktivität“, Gustav Fischer Verlag — Stuttgart — New York, 1978.
- Cohen Carolyn, Parry D. A. D. —  $\alpha$ -Hellical coiled coils — a widespread motif in proteins, *Trends Biochem. Sci.*, 1986, 11, 245.
- Cunningham E. B. — *Biochemistry : Mecanisms and Metabolism*, McGraw-Hill Book Company, 1978.
- Dumitru I. F., Iordăchescu Dana — *Introducere în enzimologie*, Edit. medicală, București, 1981.
- Feigl F. — *Spot tests in organic analysis*, Elsevier, Amsterdam, 1960.
- Gavrilă L. — *Genetica. Principii de ereditate*. Univ. București, 1986, vol. I.
- Goldberger E. — A primer of water, electrolyte and acid-base syndromes, Edit. VII Lea & Febiger, Philadelphia, 1986.
- Götz W. — *Diagnosis of Hepatic Diseases*, G-I-T-Verlag-Ernst Giebeler, Darmstadt, 1980.
- Greenspan F. S., Forsham P. H. — *Basic and Clinical Endocrinology*, Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1983.
- Hers H. G., Hue L., Van Schaftingen E. — Fructose 2,6-bisphosphate, *Trends Biochem. Sci.*, 1982, 7 (9), 329.
- Irsiegler K. — Mitteilung beim Symposium Schnellteste für Diagnostik und Therapie Kontrolle, Wien, 1975.
- Karlson P. — *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1984.
- Karlson P., Gerok W., Gross W. — *Pathobiochemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1982.

- Kutter D. — Rapid clinical diagnostic tests. Urban-Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore, 1977.
- Lang H., Rick W., Roka L. — Optimierung der Diagnostik. Merck-Symposium des Deutschen-Gesellschaft für Klinische Chemie, Mainz, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1973.
- Lehninger A. L. — Principles of Biochemistry, Worth Publishers Inc., New York, 1982.
- Majerus R. W., Connolly T. M., Deckmyn H., Ross Theodora S., Bross Teresa E., Ishii H., Bansal V. S., Wilson D. B., — The metabolism of phosphoinositide-derive messenger molecules, *Science*, 1986, 231, 1519.
- Martin jr. D. W., Mayes P. A., Rodwell V. W. — Harper's review of biochemistry, *Lange Medical Publications*, Los Altos, California, 1983.
- Mattenheimer H. — Micromethoden für das Klinisch-Chemische und Biochemische Laboratorium, W. de Gruyter and Co., Berlin, 1966.
- Mineu I., Boboia Dorina — Alimentația rațională a omului sănătos și bolnav, Edit. medicală, București, 1975.
- Mineu I., Haneu N. — Dislipidemiile, Edit. medicală, București, 1976.
- Mineu I., Haneu N. — Lipidologie clinică, Edit. medicală, București, 1983.
- Mineu I., Popescu Aurora, Ionescu-Tirgoviste C. — Elemente de biochimie și fiziologie a nutriției, Vol. I, Edit. medicală, București, 1985.
- Moruzzi G., Rossini C. A., Rabbi A. — Principi di Chimica Biologica, Libreria Universitaria I. Tinarelli, Bologna, 1979.
- Popescu Aurora, Cristea Elena, Zamfirescu-Gheorghiu Marcela — Biochimie Medicală, Edit. medicală, București, 1980.
- Proud C. G. — Guanine nucleotides, protein phosphorylation and the control of translation, *Trends Biochem. Sci.*, 1986, 11, 73.
- Rasmussen H. — The calcium messenger system, *N. Engl. J. Med.*, 1986, 314, 1094, 1164.
- Rawn J. D. — *Biochemistry*, Harper and Row, Publishers Inc., New York, 1983.
- Rose B. C., Cornick D. B. Mc., Li T. K., Lumeng L., Haddas J. C., Spector jr. R. — Transport, and metabolism of vitamins, *Fed. Proc.* 1986, 45 (1), 30.
- Rosetti-Coltoiu Matilda, Oteleanu D. — Biocatalizatorii în practica medicală și farmaceutică, Edit. medicală, București, 1980.
- Samuels M., Bennett H. — The well Body Book, Random House, New York, 1973.
- Segal B., Cotrau M., Segal Rodica — Factori de protecție prezenți în produsele alimentare, Edit. Junimea, Iași, 1986.
- Sibily D. R., Benovic J. L., Caron M. G., Lefkowitz, R. J., — Regulation of the transmembrane signaling by receptor phosphorylation, 1987, *Cell*, 48, 913.
- Solomons N. W., Say A. L. — The functional Assessment of Nutrition Status. Principles, Practice and Potential, *Nutr. Rev.*, 1983, 41 (2), 33.
- Soru Eugenia — Biochimie Medicală. Vol. III, Edit. medicală, București, 1963.
- Stanbury J. B., Wyngaarden D. S. — The metabolic basis of inherited diseases, McGraw-Hill, N.Y., 1983.
- Starlinger P. — Transposable elements, *Trends Biochem. Sci.*, 1984, 9 (4), 125.
- Streeter L. — Biochemistry, Edit. W. H. Freeman, San Francisco, 1981.
- Svoboda V. — Diagnostic test strips LACHEMA, Simposion Lachema, București, 1976.
- Șerban Margareta, Zamfirescu-Gheorghiu Marcela — Test rapid pentru depistarea în ser a valorilor crescute ale transaminazelor glutamice, *Cerc. Med. Int.*, 1973, 14 (2), 161.
- Van de Velde J. P. — Bone Turnover and its regulation, Amsterdam, 1985.
- Vieru Silvia, Sandru Dana, Comorosan S. — Investigații moderne în Biochimie. Cap. I. Teste rapide pentru investigația biochimică de uz curent. Lit. IMF, București, 1970.
- Weinberg R. A. — Cellular oncogenes, *Trends Biochem. Sci.*, 1984, 9 (4), 131.
- Whittaker P. A., Danks Susan M. — Mitochondria: structure, function and assembly, Longman, London, New York, 1978.
- Williams J. F. — A critical examination of the evidence for the reaction of the pentose pathway in animal tissues, *Trends Biochem. Sci.*, 1980, 5 (12), 315.
- Wilson J. D., Foster D. W., — Textbook of endocrinology, Saunders Company, 1985



**Zamfirescu-Gheorghiu Marcela** — Tendințe de dezvoltare în biochimia medicală, Edit. Acad. României, București, 1983.

**Zamfirescu-Gheorghiu Marcela, Georgescu I., Rădulescu Ștefania, Vlăduțescu G., Săftu Agata** — Instrucțiuni pentru raționalizarea investigațiilor în laboratorul de chimie clinică. Buletin A.S.M. (Buc.) 1970, 1, 67.

**Zamfirescu-Gheorghiu Marcela, Georgescu I., Pesci G.** — Instrucțiuni pentru teste rapide și procedee simplificate în chimia clinică, I.C.C.F., București, 1980.

**Zamfirescu-Gheorghiu Marcela, Georgescu I., Rădulescu Ștefania, Chiriloiu C.** — Simplified enzymatic tests with diagnostic value. *Abstracts*: XI International Congress of Clinical Chemistry, Vienna, 1981.

**Zarne G.** — Microbiologie generală. Vol. III, Edit. Acad. României, București, 1986.

\*\*\* Tests rapides VEB. Arzneimittelwerk Dresden-Feinchemie Schnitz, D.D.R., 1968.

\*\*\* Merckognost Testprogramm, Darmstadt, 1978.

\*\*\* Merckognost Tests Rapides, Darmstadt, 1979.

# INDEX ALFABETIC

## A

Accelerina 60, 63  
 Acetaminofenoli 168, 172  
 Acetilcolină 203, 214, 217, 218  
 Acetona 107, 155  
 Acid acetilacetic 273  
 — aspartic 80, 109, 211  
 — asparaginic 262  
 — benzoic 174  
 — biliari 111, 158, 161, 271  
 — cinamic 174  
 — citric 183, 350  
 — fenilpiruvic 273  
 — folic 333, 353  
 — fosfatidic 209  
 — fosforic 155  
 — glucuronic 129, 157, 172, 264  
 — glutamic 109, 187, 211, 220, 262  
 — hialuronic 115  
 — hipuric 174, 264  
 — lactic 112, 196, 230  
 — lipoic 217  
 — nicotinic 159, 172, 213  
 — pantotenic 213, 353  
 — picroic 107, 112  
 — piruvic 273  
 — pseudoaldobiuronic  
 — salicilic 172  
 — sialic 62  
 — uric 107, 113, 143, 230, 250, 261, 258, 274  
 Acinul hepatic 145, 149  
 ACTH 105  
 Actina 184, 192, 198  
 Actinomiozina 194, 198  
 Adenilatkinaza 189  
 ADN 226  
 Adrenalină 55, 56, 214, 264  
 Alanină 169, 262  
 Alanintransferaza 95

Albastru de metilen 256  
 Albumina 12, 67, 69, 74, 80, 230, 241  
 Albuminemie 230  
 Alcaloizi 335  
 Alcaloza 256  
 Alcapton 256  
 Alcaptonuria 274  
 Alcool 349  
 — etilic 349  
 Aldolaza 17, 189  
 Amidon 346  
 Amigdalina 335  
 Amilaza 90, 97, 258  
 Aminoacizi 34, 243, 249, 261  
 Aminofenazona 272  
 Amoniac 108, 246  
 Anemie 84  
 — feriprivă 84  
 — hemolitica 84  
 — hipocromă 84  
 — pernicioasă 84  
 Angiotensina 278, 279  
 Anionii 103, 113, 258  
 Ansa Henle 235, 236  
 Antibiotice 243  
 Anticorpi 79, 283, 297  
 Antigen 76, 283, 288  
 Antitripsina 76, 81, 230  
 Aorta 117  
 Apa 205, 208, 244  
 Apendicită 338  
 Arginina 39, 109, 249, 262  
 Arilsulfataza 129  
 ARN-polimeraza 226  
 ARN 15, 226  
 Asparagina 109, 262  
 Aspirina 172  
 ATP 16, 17, 186  
 Atropina 217  
 Axon 205  
 Azot 106, 136, 230



## B

Bacil Koch 294  
Bactericidia 49  
Barbiturice 107  
Bazofile 52  
Benzen 166  
Bicarbonat 41, 244  
Bilă 143, 161  
Bilani 158, 271  
Bilirubină 107, 157, 159, 256, 270, 273  
Biotina 333  
Boala Paget 100  
— Parkinson 215  
— Waldenström 226  
— Wilson 177, 230  
Busulfan 261  
Bromsulfonftaleină 178

## C

Calcitonina 141  
Calciu 59, 60, 103, 230, 244  
Caliceina 77  
Canalul Bellini 233  
Capsula Bowmann 233  
Carbamil fosfat 96  
Carbonat 255, 274  
Carbonicanhidraza 213, 243  
Carne 342  
Carnitină 187  
Caroten 159, 346  
Carotenoizi 335  
Carotină 335  
Cartilaj 117  
Cartof 335  
Catalaza 30  
Catecolamine 55, 216  
Cationi 102, 113, 136, 258  
Cefaline 209  
Celule gliale 207  
— Kupffer 54  
— hepatică 159  
— Schwann 205  
Celuloza 70, 336  
Cereale 335, 344  
Cerebrozide 209  
Ceruloplasmina 76, 83, 90, 177  
Chimotripsina 77  
Chinina 335  
Cicloalcani 166  
Ciclul Krebs 220  
— Nachmansson 224  
Cilindri urinari 276  
Ciroze 75, 79, 176  
Cisteină 109, 172  
Cistină 249, 262, 274  
Citocromi 30, 164, 189  
Citoplasma 55, 148, 205, 293  
Citozol 18  
Citrulina 109, 262  
Clor 103, 230, 244, 258

Cobalamina 75  
Cobalt 106, 353  
Cofeina 335  
Colagen 56, 117, 119, 122  
Colagenoliza 123  
Colagenoze 133  
Coolesterol 16, 86, 113, 156, 158, 160, 161, 209, 230  
Colinesteraze 98, 213  
Condroitin sulfat 115  
Constituenți minerali 334, 346, 347  
Convertină 72  
Coproporfirină 258, 272  
Cornee 117  
Corpi cetonici 111, 112, 143, 155, 249, 258, 273  
Cortizol 75  
Creatină 107, 111, 196, 258, 260  
Creatin fosfat 186, 196  
— fosfokinaza 95  
Creatinină 107, 111, 113, 230, 238, 250, 258, 260  
Creier 97, 220  
Cuprooxidaza 83  
Cuprirahia 230  
Cupru 34, 105, 353

## D

Dermatan sulfat 115  
Desmozină 125  
Demielinizarea 226  
Dendrite 205  
Diabet 110, 134  
Diizopropilfluorofosfat 216  
Distrofii 202  
Dopamina 214, 215

## E

EDTA 13  
Elastina 123  
Electroforeza 69, 70, 89  
Electroliti 101, 208  
Elemente neorganizate 352  
Enolaza 189, 95  
Enzyme 17, 89, 213, 264, 265, 270, 335  
Enzimopatii 26  
Eozinofile 52  
Eritrocite 14, 18, 42  
Eritropoietina 80, 232, 238  
Esteraza 77  
Estrogeni 142  
Etanolamina 109, 155

## F

Factorul antihemolitic 60  
— Hageman 60, 64  
Fagocitoza 48  
Fenacetina 172

Fenilacetilglutamina 174  
 Fenilalanina 109, 262  
 Fenilbutazona 167  
 Fenol 172, 173  
 Fenotiazină 216  
 Ferooxidaza 83  
 Fetoproteina 82  
 Fibrina 56, 59, 61, 64, 66  
 Fibrinaza 62  
 Fibrinogen 55, 76, 157, 231  
 Fibrinoliza 58, 66  
 Fibrinopeptide 61  
 Fibroblaști 116  
 Ficat 97, 100, 144, 160, 187, 264  
 Fier 75, 104  
 Fitohormoni 335  
 Fitonice 335  
 Flavonoide 335  
 Fosfagen 195, 196  
 Fosfataza 96, 97  
 Fosfatide 188, 208, 211  
 Fosfatidilcolina 209  
 Fosfatidil serina 208  
 Fosfați 244, 255, 274  
 Fosfocreatină 186  
 Fosfoinozotide 209, 211  
 Fosfolipide 86, 208, 209  
 Fosfopeptide 211  
 Fosforilaza 139  
 Fosforul 104, 259  
 Fructele 347  
 Fructoza 266, 348  
 Fucoza 62

## G

GABA 214, 216, 219  
 Gălbănirea 176, 270  
 Galactoză 120, 213, 266  
 Galactozemie 18, 110  
 Galactozidaza 129  
 Gamaglobuline 231  
 Ganglioide 209  
 Geloza 63  
 Glicerol 115  
 Glicerolipide 209  
 Glicină 109, 118, 172, 214  
 Glicocol 157, 174, 214, 262  
 Glicogen 55, 153, 213  
 Glicogenoliza 195  
 Glicogenoza 110  
 Glicoliza 19  
 Glicorahia 230  
 Glicozaminoglicani 115  
 Glicozizi 335  
 Globuline 32, 54, 78, 82, 83, 230, 233, 239  
 Glomerul 230  
 Glomerulonefrite 79  
 Glucide 212, 220, 326, 327

Glucoza 24, 107, 110, 113, 120, 143, 195, 243, 258  
 Glucoronidaza 129  
 Glucoronozid 172  
 Glutamatdehidrogenază 94  
 Glutamina 24, 109, 172, 209, 214, 220, 237, 262  
 Gentaminaza 243  
 Glutatin 17, 24, 111  
 Granulocite 45, 46  
 Granulopoietina 46  
 Guanină 67  
 Gume 336

## H

Halotan 95  
 Haptene 292  
 Hematii 16  
 Hematocrit 13  
 Hemiceluloza 336  
 Hemiglobina 36  
 Hemocromatoze 84  
 Hemoglobina 16, 30, 82, 241, 256  
 Hemofilie 72  
 Hemosideroze 84  
 Hemohexina 74  
 Hemoroizi 338  
 Hemostaza 58  
 Hemul 35, 75, 189  
 Heparan sulfat 115  
 Heparină 53, 66  
 Hepatită 84, 176, 270  
 Hepatoame 110  
 Hepatocit 146  
 Heteroauxina 335  
 Hexokinaza 17, 196  
 Hexozamine 62  
 Hidrat de zinc  
 Hidrogen 247  
 Hidrolaze 55, 91, 239  
 Hidroxilizina 118  
 Hidroxiprolina 109, 118, 123, 262  
 Hipertiroidism 100  
 Hipokalemie 102  
 Histamina 214  
 Histidină 34, 39, 109, 187, 262, 330  
 Hemocitrulină 262  
 Hormoni 75, 171, 264  
 — antidiuretici 159  
 — de creștere 142, 335

## I

Icter 176, 270  
 Iduronidaza 129  
 Imunoglobuline 68, 157, 297  
 Infarct miocardic 100  
 Insulina 105, 240, 241  
 Interferon 317  
 Intestin 143



Izodesmozina 126  
Izoaglutinine 79  
Izoleucina 109, 262, 331

## K

Keratansulfat 115

## L

Lactat 90  
— dehidrogenaza 92  
Lapte 339  
Latex 56  
Lecitină 162, 209, 230  
Legume 345  
Leguminoase 335  
Leucina 80, 109, 262, 331  
Leucinaminopeptidaza 98  
Leucocite 12, 45, 51, 274  
Liaze 91, 99  
Ligandină 158  
Lignina 336  
Limfocite 12, 285, 286, 318  
Lipaza 90, 98  
Lipide 75, 85, 208, 209, 220, 326, 328  
Lipoproteina 74, 85  
Lizina 61, 80, 109, 118, 249, 262, 331  
Lizolecitină 109, 262  
Lizozim 76, 265, 318  
Lizozom 55, 148, 285  
Lupus eritematos 79

## M

Macrofag 46, 53  
Macroglobulină 76  
Magneziu 103, 136, 230  
Manoza 266  
MAO 216  
Mastocite 116  
Mediatori chimici 213  
Melanina 180, 256, 274  
Melanocite 180  
Mercaptopurine 261  
Mere 335, 339  
Methemoglobină 36  
Metionina 109, 175, 186, 262, 331  
Metoda Cohn 72  
— Lorry 68  
Metotrexat 261  
Mezobilina 158  
Miastenia 203  
Microfibrile 121  
Mioglobina 121  
Microtubuli 55  
Microsom 148  
Mieloame 79  
Minerale 208  
Miocard 100, 155, 181, 189  
Miocit 182, 196

Mioglobine 181, 189, 241  
Miofibrile 182, 183  
Miotonia 203  
Miozina 184  
Mitocondrii 47, 148  
Molibden 353  
Monocit 45, 53  
Morcov 339, 346  
Morfină 172  
Mucilagii 336  
Mucopolizaharidoze 134  
Mușchi 143, 180

## N

NADP 17  
Neambutol 166  
Nefron 232, 239  
Nefroze 75  
Neuroni 205, 214  
Niacina 333, 353  
Nichel 105  
Nicotina 335  
Nitrat de bismut 105  
Noradrenalina 56, 214, 215  
Nucleoproteine 212  
Nucleotidaza 97  
Nucleu 148, 205

## O

Oase 100  
Oligoelemente 104, 113, 334  
Oligominerale 208  
Ornitina 109, 249, 262  
Ortotrombina 72  
Osteoblaști 116  
Osteomalacie 100  
Osteoporoza 142  
Ouă 342, 351  
Ovalbumina 342  
Ovomucoid 342  
Oxalați 255, 274  
Oxidoreductaze 92

## P

Pancreas 97, 100  
Pancreatită acută  
Papaină 56, 299  
Parahemofilie 72  
Paramiozina 194  
Parathormon 141  
Paraproteinurie 177  
Paration 168  
Parazitoe 79  
Pătrunjel 335, 346  
Parotidă 100  
Pectine 336

Pelagra 226  
 Penicilina 111, 235, 243  
 Pepene 335  
 Pepsina 299  
 Peptide 299  
 Peroxidaze 82, 347  
 Peroxizom 148  
 Pește 343  
 Piclonefrita 232, 236, 242  
 Pigmenți 75, 335  
 — biliari 161, 256  
 Piramidon 236, 272  
 Piridoxina 333, 352  
 Piruvat 113  
 — kinaza 17, 23, 95, 189  
 Piine 339  
 Plasma 141, 144, 160  
 Plasmalogene 209  
 Plasmina 77  
 Plasminogen 76  
 Plămîn 67  
 Podocite 234  
 Polinevrite 226  
 Polipeptide 109  
 Polivinilpirolidonă  
 Polizaharide 336  
 Porfirii 272  
 Porfirine 157, 272, 256  
 Porfobilinogen 272  
 Potasiu 102, 230, 245  
 Preatbumina 74  
 Pregnanđiol 177  
 Proaccelerina 63, 72, 157  
 Probenecid 172  
 Procolagen 121  
 Proconvertina 60, 157  
 Prolina 109, 262  
 Properdina 78, 317  
 Propendispent 158  
 Prostată 67, 100  
 Proteaze 77  
 Proteine 115, 188, 208, 210, 230, 250,  
 267, 326, 330, 344  
 Proteina C 80  
 — plasmatică 67  
 Proteinorahia 230  
 Proteinuria 269  
 Proteoglicani 127  
 Protoporfirina 35  
 Protoporfirinogen 35  
 Protrombina 59, 60, 76, 157  
 Provitamina A 159  
 Pseudocolinesteraza 76, 90, 98

## R

Rădăcinoase 346  
 Rășini 335  
 Reacția biuretului 68  
 — timol 72  
 — Takata Ara 72

Reactiv Loyd 107  
 — Folin-Ciocalteu 67  
 Reagine 79  
 Renina 90, 99, 232  
 Reticul endoplasmatic 148, 205  
 Retinol 75, 143  
 Riboflavina 213, 352  
 Riboza 266  
 Ribozomi 205, 211  
 Rinichi 143, 155, 160, 187, 232, 236, 264

## S

Saliva 97  
 Sarcosomii 182  
 Sarcomerul 184  
 Schizofrenia 215  
 Scorbut 133  
 Serina 109, 262  
 Serotonina 64, 214, 215, 264  
 Sfingolipide 209  
 Sfingomieline 209  
 Sfingozină 155, 209  
 Sideremia 84, 104  
 Siderofilia 74, 83, 269  
 Sifilis 230  
 Sinapse 206  
 Sindrom Crigler-Najjar 177  
 — Cushing 103  
 — Dubin 176  
 — Ehlers-Danlos 133  
 — Fron 231  
 — Gilbert 176  
 — Marfan 133  
 — Marquis 133  
 — Rotor 177  
 Sistem nervos 204  
 Singe 11, 247  
 Smintină 340  
 Sodiu 102, 136, 230, 244  
 Solamina 335  
 Somatotropina 142  
 Sorbitoldehidrogenaza 94  
 Stercobilină 160  
 Steroizi 264  
 Steride 209  
 Streptomicina 111  
 Substanța Nissl 260  
 Sulf 104, 244, 259  
 Sulfatide 209  
 Sulfocianură 175

## T

Tanin 335  
 Taurina 109, 211, 262  
 Teobromina 335  
 Teofilina 335  
 Teratoame 110  
 Tetraciclina 111  
 Tiamina 213, 333, 352  
 Tiroxina 75, 141, 211



Tirozina 68, 109, 262  
 Toluol 265  
 Transamidază 77  
 Transcortina 74  
 Transferaze 94, 96  
 Transferina 74, 83  
 Treonina 109, 262, 331  
 Trigliceride 85, 113, 209  
 Tripsină 43, 56, 77, 90  
 Triptofan 62, 68, 109, 230, 262, 331  
 Trombină 56, 59, 61, 77  
 Trombocite 54  
 Trombokinaza 63  
 Tromboplastina 59, 60, 63  
 Trombostenina 55, 64  
 Tropocolagen 119, 121  
 Tropomiozină 194  
 Troponină 194  
 Tub contort 234, 236  
 — urinifer, 233

## T

Telină 335  
 Tesut conjunctiv 114  
 — hepatic 143  
 — muscular 180  
 — nervos 207  
 — osos 114, 135

## U

Ulei 339  
 Uleiuri eterice 335, 347  
 Ultracentrifugarea 70, 88  
 Untul 340  
 Urat 75, 255, 274  
 Ureea 106, 113, 143, 240, 249, 258, 260

Redactor de carte: Farm. dr. ELENA HAȚIEGANU-BURUIANA  
 Tehnoredactor: STELUȚA VASILACHE

Bun de tipar : 8-IV-1991.

Formatul : 16/70×100.

Hîrtie : scris IA 70×100/56.

Coli tipar : 22,75.

Imprimeria „Oltenia” — Craiova  
 B-dul Maresal Ion Antonescu nr. 102  
 ROMANIA



Urina 158, 232, 235, 251, 253, 255  
 Urobilină 158, 271  
 Urobilinogen 271  
 Uroporfirina 258, 272  
 Uroporfirinogen 258, 272

## V

Valina 80, 109, 331  
 Varice 338  
 Vasopresina 56  
 Vena hepatică 145  
 — portă 145  
 Verde de brom 81  
 Vin 339  
 Vincristină 261  
 Virusuri 55, 292  
 Vitamine 213, 230, 264, 265, 328, 332, 340  
 Vitamina A 75, 159  
 — B<sub>1</sub> 213, 226  
 — B<sub>12</sub> 34, 75, 159, 213, 333, 340  
 — C 340, 346  
 — D 159, 340  
 — K 62, 159, 340

## X

Xantina 274  
 Xantinoxidaza 157  
 Xiloza 266

## Z

Zaharoza 339, 340  
 Zahăr 339  
 Zinc 105  
 Zmeura 348





BCU/AS/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

503095 DEC. 1991

ISBN 973-39-0141-5  
ISBN 973-39-0114-8

Lei 147



